



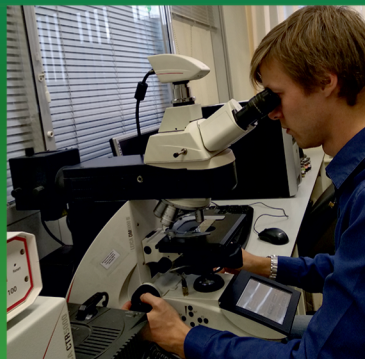
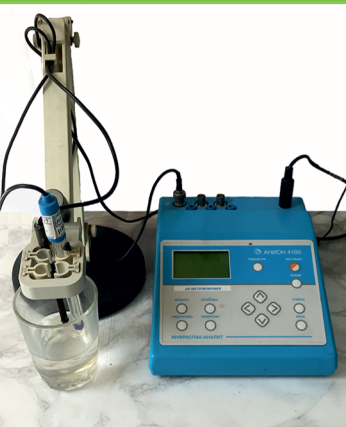
Уральский  
федеральный  
университет

имени первого Президента  
России Б. Н. Ельцина

Институт естественных наук  
и математики

# МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Большой специальный практикум





МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ ПЕРВОГО ПРЕЗИДЕНТА РОССИИ Б. Н. ЕЛЬЦИНА

# МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Большой специальный практикум

Под общей редакцией Т. А. Радченко  
2-е издание, исправленное и дополненное

Рекомендовано  
методическим советом Уральского федерального университета  
для студентов вуза, обучающихся по направлениям подготовки  
06.03.01, 06.04.01 «Биология»,  
05.03.06, 05.04.06 «Экология и природопользование»

Екатеринбург  
Издательство Уральского университета  
2019

УДК 502.2(07)  
М545

Авторы:

Э. Ф. Емлин, Г. А. Каллистов (разд. 1); Г. И. Махонина, О. А. Некрасова, В. В. Валдайских (разд. 2); Г. Ф. Некрасова (подразд. 3.1, работы 1–10); Н. Н. Лопухова (подразд. 3.1, работа 11); С. А. Шавнин, Д. Ю. Голиков (подразд. 3.2); Е. И. Филимонова (подразд. 3.3); В. Н. Позолотина (подразд. 3.4); Т. А. Радченко (подразд. 3.5); Л. А. Горланова, В. С. Мазепа, Р. М. Хантемиров (подразд. 3.6); М. А. Глазырина, Т. С. Чибрик (подразд. 3.7); И. А. Уткина (подразд. 3.8), А. А. Бетехтина (подразд. 3.8, 3.9); Н. В. Лукина, Д. В. Веселкин (подразд. 3.9); К. И. Бердюгин, В. Н. Большаков (разд. 4); Т. К. Стихина (разд. 5)

Рецензенты:

лаборатория популяционной экологии и моделирования  
Института экологии растений и животных УрО РАН  
(заведующий лабораторией доктор биологических наук Г. В. Оленев);  
А. П. Дьяченко, доктор биологических наук,  
профессор кафедры биологии, экологии и методики их преподавания  
Уральского государственного педагогического университета

**Методы** экологического мониторинга : Большой специальный  
М545 практикум / [Э. Ф. Емлин и др.] ; под общ. ред. Т. А. Радченко ;  
М-во науки и высш. образования Рос. Федерации, Урал. федер.  
ун-т. — 2-е изд., испр. и доп. — Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та,  
2019. — 324 с.

ISBN 978-5-7996-2674-7

Практикум направлен на формирование у студентов навыков экспериментальной работы в области экологического мониторинга и изучения экосистем. Показаны методы и программы химических и биологических наблюдений и измерений, которые используются для оценки состояния окружающей среды и прогнозирования тенденций ее изменения. Практические задания предполагают широкое использование технических средств и вычислительной техники.

Для студентов, изучающих дисциплины в рамках модулей «Экология и эволюция биосферы», «Методы исследований в экологии», «Фундаментальная экология», «Методы экологического мониторинга».

УДК 502.2(07)

На обложке: фото авторов

© Уральский государственный университет, 2005

© Большаков В. Н., предисловие, 2005

© Уральский федеральный университет,  
с изменениями, 2019

ISBN 978-5-7996-2674-7



## ПРЕДИСЛОВИЕ

В настоящее время экология — пример синтетического научного направления, использующего багаж многих наук, прежде всего естественно-научного цикла. Однако центральной идеей такой экологии остается идея о том, что экологические системы всегда включают в себя по крайней мере две составляющие — биотическую и абиотическую, при этом ведущая, активная роль (совершение работы по поддержанию стационарного состояния системы вдали от термодинамического равновесия за счет внешних источников энергии) принадлежит первой из них.

Значительная часть современных экологических исследований посвящена изучению воздействия деятельности человека на основные типы природных сообществ, а также исследованиям путей сохранения различных экосистем и ландшафтов, генофонда биоразнообразия. Итогом этих исследований является составление научно обоснованных прогнозов изменений биосферы и отдельных ее участков и разработка рекомендаций для природопользования, охраны окружающей среды и охраны природы, позволяющих сочетать материальное и духовное благополучие людей с нормальным функционированием экосистем.

В число первоочередных задач экологии входят не только наблюдения за воздействием загрязнений на структуру и функционирование наземных и пресноводных экосистем, но и разработка методологии мониторинга этого воздействия. Для решения данной задачи разрабатываются и совершенствуются программы химических и биологических наблюдений и измерений, которые могут быть использованы в системе мониторинга для оценки состояния окружающей среды и прогнозирования тенденций ее изменения. В связи с этим осуществляются три направления исследований:

1. Анализ процессов трансформации загрязняющих веществ в экосистемах и путей их переноса. В рамках данного направления

проводится комплексное изучение важнейших загрязнителей, их миграций и трансформаций в экосистемах.

2. Исследование зависимости «доза — эффект» посредством полевых наблюдений и лабораторных экспериментов. Здесь особое внимание уделяется характеристике состояния экосистем в зависимости от концентрации накопленных в них загрязнителей. В связи с этим очень важными являются наблюдения за характером этих взаимосвязей на базовых и региональных станциях мониторинга, в центральной и буферной зонах заповедников, прежде всего биосферных. В последнем случае мы получаем возможность оценить реакцию живых организмов на воздействие фоновых уровней загрязнения природных сред.

3. Идентификация показателей изменений параметров экосистем, являющихся результатом загрязнения окружающей среды. Для этого направления основным является поиск биологических индикаторов состояния окружающей природной среды на клеточном, организменном, популяционном уровнях и на уровне экосистем.

Экологический мониторинг как система наблюдений, позволяющая выделить изменения состояния биосферы под влиянием человеческой деятельности и включающая в себя наблюдение, оценку и прогноз состояния природной среды, является необходимым условием организации управления ее качеством. Кроме того, организация системы мониторинга предполагает получение информации об исходном состоянии среды до наступления антропогенных изменений. Поскольку живые организмы наиболее комплексно отражают влияние неблагоприятных факторов на экосистемы, базовая информация поступает при биологическом мониторинге. Являясь частью экологического мониторинга, биологический мониторинг представляет собой систему слежения за ответной реакцией биоты, по существу, это мониторинг биоразнообразия и биоиндикация. Таким образом, хотя экологический мониторинг как процедура отслеживания понимается ныне очень широко, однако в первую очередь это биологические методы контроля состояния окружающей природной среды.

Методы экологического мониторинга и методы исследования экологии как науки находятся в постоянном развитии. Реализация

государственных образовательных стандартов и учебных планов направления «Экология и природопользование» требуют формирования качественно нового специалиста, ориентированного на экологию как «мультидисциплинарное» направление. Объектами профессиональной деятельности эколога могут быть экосистемы, популяции и сообщества, модели экосистем, экологический мониторинг, управление в системе природопользования и охраны природы, контроль и прогноз загрязнений, а также менеджмент и маркетинг в экологии. Формирование такого специалиста — с новым типом научного мышления — должно базироваться на использовании прежде всего активных форм обучения, связанных с непосредственной работой с природными объектами. Практические рекомендации и теоретические обобщения по результатам экологических исследований на основе экспериментальных данных могут быть получены лишь при владении методикой и техникой эксперимента.

Представленный большой специальный практикум по экологическому мониторингу позволяет студентам приобрести навыки проведения эксперимента и анализа — от сбора первичных данных до обобщения полученного материала при изучении разных компонентов экосистем. Студенты обучаются выбору необходимой методики и четкой работе в соответствии с ней, постановке лабораторных опытов и алгоритму построения эмпирических обобщений, обработке и анализу результатов наблюдений, изложению, оформлению полученных результатов и составлению практических рекомендаций. На основе общих представлений и навыков, приобретенных на специальном лабораторном практикуме, студенты могут в дальнейшем самостоятельно осваивать методики и проводить любое исследование — эксперимент или наблюдение в области экологического мониторинга.

*Академик РАН В. Н. Большаков*

# 1. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ КОР ВЫВЕТРИВАНИЯ И ПОЧВ

Освоение методик экспресс-анализа минеральной составляющей осадочных пород, почв и кор выветривания открывает широкие возможности исследования стадий и условий преобразования литогенной основы ландшафта и экзогенных геосистем в целом, в том числе и в случае антропогенных воздействий.

Лабораторные работы предусматривают знакомство студентов с основами минералогического анализа, способами определения и описания горных пород и продуктов их преобразования, освоение приемов работы с поляризационным петрографическим микроскопом с целью диагностики породообразующих, акцессорных и вторичных минералов, а также понимание процессов гипергенных изменений минералов и горных пород.

## Работа 1

### Петрографическое описание горных пород

Горные породы представляют собой сочетание (агрегат) минералов естественного (природного) происхождения.

Каждой породе свойственно известное постоянство химического и минерального состава, структуры, а иногда и условий залегания в земной коре [Петрография и петрология...].

Породы, состоящие из одного минерала, называются *мономинеральными* (кварцит — из кварца  $\text{SiO}_2$ , гипс — из одноименного минерала  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Породы, в состав которых входят несколько минералов, называются *полиминеральными* (гранит состоит из кварца, полевых шпатов, слюд).

Горные породы не имеют химических формул. Их состав оценивается валовым химическим анализом, например, химический

состав базальта:  $\text{SiO}_2$  — 49–52 %,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  — 10–14 %,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  — 4–14 %,  $\text{CaO}$  — 8–10 % и т. д.

По условиям образования (генезису) горные породы делятся на три типа:

- 1) магматические,
- 2) осадочные,
- 3) метаморфические (в том числе метасоматические).

*Магматическими горными породами* называют горные породы, которые образовались в результате кристаллизации магмы при ее остывании в недрах Земли или на ее поверхности.

Магма (или лава) — это сложный силикатный расплав следующего состава:  $\text{O}_2$  — 46,7 %; Si — 27,7 %; Al — 8,1 %; Fe — 5,1 %; Ca — 3,6 %; Mg — 2,1 %; Na — 2,7 %; K — 2,6 %, другие элементы обычно не превышают в среднем 1,4 %. Температура магмы различна, но обычно 1000–1300 °C.

В зависимости от условий, в которых происходит охлаждение и застывание (кристаллизация) магмы, горные породы делят на интрузивные (глубинные) и эффузивные (излившиеся).

При застывании магма на значительной глубине охлаждается медленно, при этом происходит кристаллизация вещества с образованием крупнокристаллических *интрузивных горных пород* (гранит, сиенит, габбро, лабрадорит, дунит).

*Эффузивные горные породы* образовались из магмы, излившейся на поверхность земли, при этом магма остывала быстро с образованием мелкокристаллических пород (базальт, липарит, андезит).

В составе магматических пород основное место занимают полевые шпаты, амфиболы, пироксены, кварц и слюды. В породах могут присутствовать вторичные минералы (карбонаты, глинистые и др.), которые возникают в процессе выветривания из первичных минералов.

Диагностика горной породы любого происхождения опирается на изучение ее структурно-текстурных признаков и вещественного состава. **Ст р у к т у р а** — особенности внутреннего строения породы, обусловленные формой, размерами, количественным соотношением ее составных частей — минералов.

В магматических породах различают следующие структуры:

- 1) *полнокристаллическую* (зернистую) — состоит из кристаллических зерен, типична для глубинных пород (гранит);
- 2) *неполнокристаллическую* (порфировую) — совместное нахождение кристаллов и аморфного стекла (базальт);
- 3) *стекловатую* (аморфную) — преобладают нераскристаллизованные массы, типичные для излившихся пород (обсидиан — вулканическое стекло).

Среди кристаллических структур выделяют:

- крупнозернистые (размер зерен более 5 мм);
- среднезернистые (размер зерен от 2 до 5 мм);
- мелкозернистые (размер зерен менее 2 мм).

Если порода состоит из очень мелких зерен, неразличимых невооруженным глазом, ее структура называется *афанитовой* или *скрытокристаллической*.

**Текстура** характеризует пространственное расположение частей породы в ее объеме — «рисунок» породы.

Для магматических пород характерны следующие текстуры:

- 1) массивная — равномерное, плотное расположение минералов;
- 2) полосчатая — чередование в породе участков различного минерального состава или различной структуры;
- 3) шлаковая — порода, содержащая видимые глазом пустоты.

**Осадочные горные породы** (рис. 1.1) образовались на поверхности Земли в результате накопления минеральных масс, образовавшихся в процессе разрушения горных пород (магматических, ранее существовавших осадочных, метаморфических). Процессы разрушения и накопления новых горных пород на поверхности Земли идут повсеместно: в пустынях, вдоль морских и океанических берегов, на дне морей и океанов, в речных долинах, горных областях.

В одних случаях образующиеся на поверхности Земли осадочные горные породы состоят из обломков ранее разрушенных горных пород, в других — из скопления органических остатков, в третьих — из кристаллических зерен, выпавших из раствора.

Совокупность геологических процессов, определяющих состав, строение, состояние и свойства осадочных горных пород, называется **литогенезом**.

Стадии литогенеза:

1) *гипергенез* — выветривание, разрушение кристаллических и других пород, образование новых минералов;

2) *седиментогенез* — перенос и отложение материала (отложение осадка);

3) *диагенез* — превращение осадка в осадочную породу (уплотнение, перекристаллизация осадка);

4) *катагенез* — начальное изменение осадочной породы;

5) *метагенез* — глубокие изменения осадочной породы, образование метаморфизованной осадочной породы.



Рис. 1.1. Классификация осадочных горных пород по происхождению

*Обломочные породы* состоят из обломков разнообразных пород и минералов. Минеральный состав обломков, входящих в обломочные породы, различен и не является определяющим в наименовании этой подгруппы пород. Для них важно установить структуру, определяющуюся главным образом величиной и формой обломков, а также наличием цемента.

По составу цемент может быть:

- кремнистым,
- известковым,

- мергелистым,
- глинистым,
- глауконитовым,
- битуминозным,
- железистым и др.

Помимо простого цемента, встречается *сложный* (сочетание двух или более цементирующих веществ). Цементы обычно определяются легко: известковый — по реакции с соляной кислотой, кремнистый — по высокой твердости и слабо-жирному блеску, железистый — по бурой окраске, глинистый — по сравнительно легкой размокаемости, битуминозный — по запаху и т. д.

*Химические осадочные породы* образуются путем выпадения из водных растворов химических осадков. К этим породам относятся различные известняки, известковый туф, доломит, ангидрит, гипс, каменная соль и др. Общей особенностью являются их растворимость в воде и трещиноватость.

*Органогенные осадочные породы* образуются в результате накопления и преобразования остатков животного мира и растений, отличаются значительной пористостью, растворяются в воде. К органогенным породам относятся известняк-ракушечник, диатомит и др.

подавляющее большинство пород этих двух групп имеют смешанное (биохимическое) происхождение.

Группы химических и органогенных пород обычно делятся на подгруппы по составу:

- карбонатные,
- кремнистые,
- железистые,
- галоидные,
- сернокислые,
- фосфатные и др.

Особо выделяются горючие породы, или каустобиолиты (возникают путем углефикации скоплений растительного материала).

*Метаморфизм горных пород* называется существенное изменение их минерального состава, структуры и текстуры, происходящее под действием высоких температур



и давлений, а также магматических газов и воды на некоторой глубине в земной коре. Преобразование горных пород происходит с сохранением твердого состояния породы, без расплавления или растворения.

В зависимости от степени метаморфизма горных пород выделяют три метаморфические фации (попытаться сопоставить):

1. *Зеленосланцевая фация* — низкая степень метаморфизма, особенностью формирования пород является обстановка низких температур (200–400 °С) и высоких давлений (до 1200 МПа) на глубинах до 40 км под действием литостатического давления или на меньших глубинах в результате сильнейшего стресса — одностороннего давления, возникающего, например, в результате крупных надвигов (филлиты, глаукофановые или голубые сланцы).

2. *Амфиболитовая фация* — средняя степень метаморфизма, характерна для амфиболитов и разнообразных кристаллических сланцев: образование пород происходит при температурах 500–700 °С и давлениях 200–800 МПа. При таких температурах породы начинают частично плавиться, а породы превращаются в мигматиты.

3. *Гранулитовая фация* — высшая степень метаморфизма: формирование пород происходит при температурах 700–1000 °С и давлениях 400–1200 МПа на глубинах 10–40 км. Характерными породами этой фации являются гнейсы.

При исследовании горных пород и минералов используют разнообразные методы, однако многие минералы достаточно надежно могут быть определены на основании изучения только их физических свойств (цвет, блеск, твердость, спайность и др.), без применения дорогостоящих специальных методов.

**Цель работы** — освоить методику описания главных генетических типов горных пород, основные приемы и методы петрографического анализа с использованием основных диагностических признаков.

### ***Материалы и оборудование.***

1. Эталонные коллекции магматических, осадочных, метаморфических горных пород.

2. Соляная кислота (5 %).

3. Лупа.
4. Магнит (или компас).
5. Минералы шкалы твердости Мооса.
6. Наборы схем, рисунков по процессам образования горных пород различных генетических типов.
7. Наборы диаграмм, таблиц по химическому, минеральному и компонентному составу горных пород различных генетических типов.

### ***Содержание и ход работы.***

1. Изучение строения (структуры и текстуры) и минерального состава интрузивных пород (перидотиты, габбро, диориты, граниты, сиениты). Описание вторичных изменений породообразующих минералов: сосюритизация и пелитизация полевых шпатов, хлоритизация биотита, актинолитизация первичного амфибола, замещение амфиболами и эпидотом пироксенов, серпентинизация пироксенов и оливина. Описание строения (структуры и текстуры), минерального состава и вторичных изменений эффузивных пород (базальты, андезиты, риолиты). Описание продуктов зеленосланцевой фации метаморфизма эффузивных пород, т. е. замещение ортомагматических минералов вторичными хлоритом, эпидотом, актинолитом, карбонатами, альбитом и кварцем.

2. Изучение минерального состава, строения и определения природы осадочных пород: глинистых пород, песчаников, известняков, доломитолитов; описание стадий их образования и изменения (седиментогенез, диагенез, катагенез).

Диагностика глинистых минералов (кандиты, смектиты, иллиты). Для диагностики глинистого вещества могут быть применены оптический, термический, рентгеноструктурный, химический и электронно-микроскопический анализ.

3. Описание структур, текстур и минерального состава метаморфических пород (филлиты, зеленые сланцы, серпентиниты, кварциты, мраморы, кристаллические сланцы, амфиболиты, гнейсы), определение стадий преобразования исходного вещества.

4. Изучение минеральных ассоциаций каустобиолитов.

### ***Методика выполнения работы.***

**Макроскопическое описание.** Его порядок несколько различается для полнокристаллических равномернозернистых и неполнокристаллических порфировых пород.

*Полнокристаллические равномернозернистые породы (интрузивные):*

— цвет — существенный признак породы, отражающий ее минеральный состав и часто характерный для магматических пород определенной группы: меланократовые габбро и нориты, лейкократовые граниты и сиениты и т. п.;

— минеральный состав породы — важнейшая ее особенность. Макроскопически породообразующие минералы определяются на основании суммы признаков (цвет, блеск, характер спайности, форма зерен, твердость, характер излома и т. д.). Установив минеральный состав породы, глазомерно определяются количественные соотношения главных минералов, далее каждый минерал описывается отдельно с указанием продуктов и характера вторичных изменений;

— структура и текстура. При описании структуры породы отмечаются преобладающие размеры зерен, степень однородности строения породы, пегматитовые прорастания, катаклаз и другие особенности. При описании текстуры особо отмечается наличие полосчатости, гнейсовидности, ориентированного расположения минералов. Хотя текстурные признаки особенно отчетливо выявляются в обнажении (т. е. до отбора представительного образца породы), их можно также наблюдать в образце и даже в шлифе. Внешние признаки измененности, выветрелости породы проявляются в ее просветлении, нарушении монолитности, появлении мелкой трещиноватости, бурых потеков, корочек ожелезнения и т. п.

*Неполнокристаллические порфировые породы (эффузивные).* При описании породы с порфировой структурой, так же как и с порфировидной, прежде всего визуально определяются:

— цвет породы;

— минеральный состав — количество вкрапленников в массе породы. Далее устанавливается минеральный состав вкрапленников, отмечаются количественное преобладание отдельных

минералов над другими и характер их распределения в основной массе (равномерное, кучное и т. д.). Затем описывается каждый минерал отдельно;

— характеристика структуры и текстуры основной массы, ее плотность, пористость, флюидальность.

**Представление результатов.** Описание и петрографическое определение горной породы на основании диагностических признаков (в виде текста согласно пунктам, указанным в методике выполнения работы). По итогам проведенных наблюдений делается логический вывод о названии породы, которое обычно ставится перед ее описанием.

## Работа 2

### **Кристаллооптический метод диагностики минералов и горных пород**

Проведение геологических и геоэкологических исследований невозможно без использования оптического изучения минералов и минеральных агрегатов под микроскопом. Основным методом микроскопического исследования минералов и горных пород является кристаллооптический, использующий свойства распространения света в минералах.

**Цель работы** — изучить устройство поляризационного микроскопа, подготовить его к работе и освоить основные приемы и методы диагностики порообразующих минералов кристаллооптическим методом, определить минералы по их оптическим свойствам.

#### **Материалы и оборудование.**

1. Шлифы минералов и горных пород.
2. Поляризационный петрографический микроскоп.
3. Наборы фотографий микроструктур магматических, осадочных и метаморфических пород в шлифах под микроскопом.

## Устройство поляризационного петрографического микроскопа

Внешний вид поляризационного микроскопа зависит от его марки. Поляризационный микроскоп (рис. 1.2) состоит из вращающегося предметного столика, на котором размещается изучаемый минерал; поляризующего «фильтра», называемого поляризатором (находится под столиком), и другого, подвижного «фильтра», называемого анализатором (расположен в тубусе над объективом). Независимо от марки микроскопа он включает два узла, разделенных вращающимся предметным столиком, на котором размещается исследуемый препарат. Нижний узел — осветительное устройство — предназначен для регулировки светового потока при наблюдении. Верхний узел включает разнообразные элементы, предназначенные для анализа изображения кристалла. Оба узла смонтированы на штативе.

Главнейшие элементы микроскопа — два поляризатора (николя): нижний «поляризатор», расположенный под предметным столиком, и верхний «анализатор», смонтированный в тубусе. Поляризаторы включены в систему линз, смонтированных в конденсоре (под предметным столиком).

Для изучения минералов в проходящем свете используют небольшие шлифы, их применяют главным образом при петрографических исследованиях. Шлифы необходимы, когда требуется выяснить структуру данного кристаллического объекта и соотношения между отдельными слагающими его компонентами.

Шлиф представляет собой тонкую плоскопараллельную пластинку. Для изготовления шлифов плоскую поверхность сравнительно тонкого среза минерала или минерального агрегата (породы) наклеивают канадским бальзамом на предметное стекло (толщина его около 1 мм) и затем ошлифовывают до стандартной толщины 0,03 мм. В заключение на препарат при помощи того же канадского бальзама наклеивается тонкое покровное стекло толщиной 0,1–0,2 мм. Иногда шлифы готовят из рыхлого материала, предварительно проваренного в канадском бальзаме для придания им прочности.

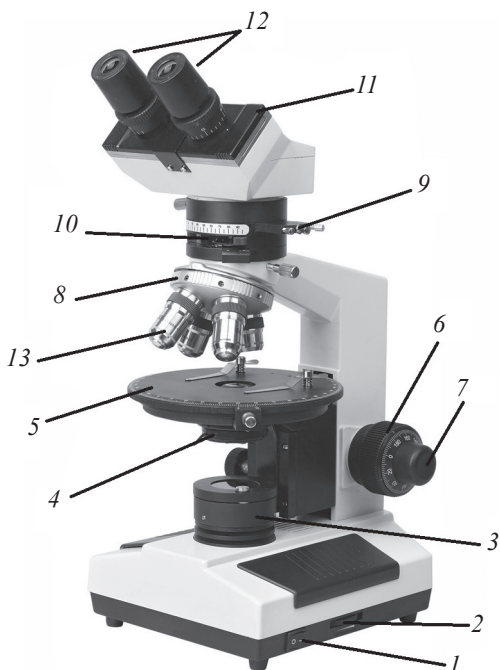


Рис. 1.2. Общий вид поляризационного микроскопа

1 — включатель осветительного устройства; 2 — реостат; 3 — осветитель;  
4 — конденсор с линзой Лазо, апертурной диафрагмой и поляризатором;  
5 — вращающийся предметный столик; 6 — винт грубой фокусировки; 7 —  
микрометрический винт; 8 — револьверное устройство с объективами; 9 —  
анализатор; 10 — прорезь для введения компенсационных пластин; 11 — бинокуляр;  
12 — окуляры; 13 — объектив

**Содержание и ход работы.** Диагностика минералов и горных пород с использованием кристаллооптического метода состоит из нескольких этапов:

**1. Проверка микроскопа.** Проверка готовности микроскопа к работе включает проверки, главные из которых: 1) установка нитей окулярного креста (линейки микрометра) на ясное зрение; 2) центрировка объектива, фокусировка; 3) проверка взаимной перпендикулярности николей (поляризатора и анализатора); 4) определение направления колебаний, пропускаемых поляризатором.

При подготовке микроскопа к работе необходимо подобрать нужные окуляр и объектив. Обычно работу начинают с объективом  $\times 4$  или  $\times 10$ . Работая с объективами  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 60$ , фокусные расстояния которых очень малы, наведение на резкость следует производить с особой осторожностью, чтобы не раздавить препарат и не повредить линзы объективов.

Стандартный режим работы микроскопа (без анализатора): препарат закреплен на предметном столике в районе отверстия, объектив и окуляр установлены, осветитель включен (реостатом необходимо регулировать количество поступающего на препарат света), апертурная диафрагма полностью открыта, анализатор установлен в нерабочее положение.

## **2. Центрировка микроскопа.**

1. Найти в шлифе минерал небольшого размера или какую-либо заметную деталь малых размеров (например, темную точку в шлифе) и, двигая препарат по столику, привести ее в центр перекрестия окуляра.

2. Наблюдать за поведением выбранной точки, вращая предметный столик микроскопа. Если точка не смещается с центра перекрестия окуляра, то объектив следует считать отцентрированным. При невыполнении этих условий отцентрировать объектив следующим образом:

- установить изображение выбранной детали объекта в положение максимального его удаления от центра перекрестия окуляра вращением предметного столика;

- разделить пополам (приблизительно) расстояние от центра перекрестия до изображения выбранной детали объекта и с помощью центрировочных винтов объектива переместить изображение детали на половину этого расстояния;

- установить изображение детали объекта снова в центр перекрестия перемещением объекта (от руки или с помощью препаратаводителя);

- проверить, остается ли изображение выбранной детали объекта на перекрестии окуляра при вращении предметного столика;

- при необходимости все операции, описанные выше, повторять до тех пор, пока точка объекта, установленная в центр перекрестия

окуляра, не будет смещаться при вращении предметного столика микроскопа. В этом случае центрировку объектива можно считать законченной.

**3. Фокусировка.** Перемещение столика микроскопа для наведения на резкость производится путем вращения винта грубой фокусировки и микрометричного винта. Некоторые затруднения могут возникнуть при фокусировании объективов с большим увеличением, имеющих очень маленькое фокусное расстояние. Глубина резкости таких объективов также очень мала; опуская тубус, легко пропустить нужное положение и раздавить объективом препарат. Поэтому начинающему исследователю рекомендуется сначала поднять предметный столик так, чтобы объектив слегка касался препарата, а затем очень медленно его опускать, следя за появлением изображения.

**4. Проверка взаимной перпендикулярности николей.** Плоскости колебания волн, пропускаемых николями (поляризатором и анализатором), всегда должны быть взаимно перпендикулярны. Для проверки николи ставятся в скрещенное положение. Если при этом поле зрения темное, то это соответствует требуемому положению. Если при установке николей в скрещенное положение поле зрения остается светлым, это свидетельствует о том, что колебания волн в николях совершаются не по взаимно перпендикулярным направлениям. Тогда верхний николь (анализатор) поворачивают до максимальной темноты.

**5. Определение направления колебаний, пропускаемых поляризатором.** Нити окуляра должны быть строго параллельны плоскости колебания волн, пропускаемых николями, т. е. они должны быть ориентированы параллельно осям оптической системы микроскопа. Колебания одного николя совершаются в плоскости симметрии микроскопа, а другого — перпендикулярно к ней. Для определения направления колебаний в поляризаторе (нижнем николе) используют шлиф породы, содержащей биотит. Этот минерал обладает резко выраженным плеохроизмом — свойством изменять цвет при повороте столика микроскопа. Для биотита выбирают срез, в котором четко видна спайность (именно этот разрез обладает ясным плеохроизмом).



Выбрав зерно, вращают предметный столик и наблюдают за изменением цвета минерала. Когда биотит приобретает наиболее интенсивную окраску, обращают внимание на то, параллельны ли трещины спайности какой-либо из нитей окуляра (вертикальной или горизонтальной). Если параллельны, то в этом направлении располагается плоскость колебания волн  $N_g$ , пропускаемых нижним николем. Если в момент появления наиболее густой окраски минерала трещины спайности образуют некоторый угол с нитью, это говорит о неправильной ориентировке нитей креста окуляра. Для исправления положения поворачивают окуляр таким образом, чтобы одна из его нитей совпала с трещинами спайности биотита в момент его максимальной окраски. Обычно же окуляры крепятся в тубусе жестко, необходимо лишь следить за тем, чтобы николи были взаимно перпендикулярны. Определение направлений колебаний оптической системы микроскопа производят только один раз и запоминают.

**Методика исследования минералов в шлифах.** Теоретические основы явлений, наблюдаемых при включении анализатора, подробно изложены в учебниках [Лодочников; Маракушев и др.], поэтому в работе дается их краткое описание.

Исследования минералов в прозрачных шлифах осуществляется в два этапа.

### **Первый этап исследования без анализатора**

**Форма и идиоморфизм.** О форме минерального зерна приходится судить по очертаниям различных его срезов. По степени ограненности минералы делят на идиоморфные, гипидиоморфные и ксеноморфные. Идиоморфный минерал имеет хорошо выраженные собственные грани и характеризуется проявлением типичной для данного кристаллического вещества формы. Гипидиоморфный минерал представлен плохо образованными (частично ограненными) кристаллами, обнаруживающими лишь общий облик, характерный для него. Ксеноморфный минерал не имеет собственных граней и заполняет промежутки между другими минералами.

**Цвет и плеохроизм.** Минералы в петрографии делят на прозрачные и непрозрачные. Незначительная часть минеральных видов полностью поглощают свет и выглядят в шлифах черными, их условно называют «рудными минералами» и изучают в отраженном свете с помощью рудного поляризационного микроскопа. Следует помнить, что за рудный минерал в шлифе можно принять комочки любого микрокристаллического и аморфного агрегата (глинистое и органическое вещество, битум, стекло и др.). Большинство породообразующих и акцессорных минералов пропускают свет и диагностируются по окраске в шлифах. Однако в шлифах окраска многих минералов существенно меняется по отношению к образцам. Плеохроизм — изменение окраски кристалла при вращении столика. Это явление обусловлено различием в степени поглощения световых лучей (абсорбции) по разным кристаллографическим направлениям в окрашенном кристалле. При изучении цвета минерала необходимо оценить следующие параметры: 1) наличие окраски без анализатора; 2) вид окраски (темно-травяно-зеленый, светло-каштаново-коричневый, бледно-желто-зеленый, небесно-голубой и т. п.); 3) наличие и вид плеохроизма; 4) схему плеохроизма.

Наличие плеохроизма устанавливается в процессе вращения предметного столика в наиболее анизотропных зернах, которые выглядят как наиболее удлиненные, со спайностью и высокой интерференционной окраской с анализатором. Следует записывать при наблюдении минерала без анализатора варианты его окраски. Виды плеохроизма: 1) изменение интенсивности окраски (турмалин, роговая обманка и др.); 2) изменение цвета — дихроизм (гиперстен, глаукофан и др.); 3) изменение цвета и интенсивности окраски (биотит, эгирин и др.).

**Спайность.** Спайность минералов под микроскопом приходится изучать визуально и качественно, просматривая все зерна минерала и оценивая следующие параметры: 1) наличие спайности; 2) степень совершенства спайности; 3) ориентировку трещин спайности; 4) количество направлений и углы спайности.

Наличие спайности у минерала в шлифе определяют, прикрывая диафрагму, по появлению тонких темных полосок внутри кристалла, возникающих за счет преломления света на границе минерала и залитого в трещины канадского бальзама. Совершенство спайности

оценивают визуально по толщине и параллельности трещин. В минералах с весьма совершенной спайностью (слюды, гипс) трещины очень тонкие, четкие, параллельные и прямолинейные, отличаются значительной протяженностью и расположены очень близко — на расстоянии до 0,004 мм. Минералы с совершенной спайностью (пироксены, амфиболы и др.) отличаются общим параллельным расположением достаточно широких, протяженных трещин, не всегда параллельных друг другу и расположенных не ближе 0,01 мм друг от друга; видны неправильные трещины, пересекающие трещины спайности. У минералов с несовершенной спайностью (оливин, титанит) трещины извилистые и прерывистые, расположены не параллельно, хотя сохраняют общее направление.

Знание угла спайности нередко помогает диагностировать минерал. Так, у амфиболов этот угол часто равен  $60^\circ$  ( $120^\circ$ ), у пироксенов —  $87^\circ$ . Многие карбонаты характеризуются углом  $73\text{--}75^\circ$  между трещинами спайности.

Порядок определения угла спайности:

1. Выбираем минеральный срез, перпендикулярный двум системам трещин. Перпендикулярность среза трещинам проверяют по наличию тонких и четких темных полосок. В случае наклонного положения трещин они будут при подъеме и опускании тубуса микрометренным винтом перемещаться в поле зрения вкрест своего простиранья.

2. Поворотом столика совмещаем одно из направлений трещин спайности с вертикальной или горизонтальной нитью окуляра и берем отсчет по лимбу столика.

3. Повернув столик до совмещения той же нити окуляра со вторым направлением трещин спайности, берем второй отсчет.

*Вывод.* Разность отсчетов равна углу между двумя плоскостями спайности. При получении тупого угла берется дополнительный до  $180^\circ$  угол. Оба отсчета должны быть взяты по одну сторону от нуля лимба. Если один отсчет взят с одной стороны от нуля, а другой — с противоположной, то из  $360^\circ$  вычитаем отсчет, взятый влево от нуля, разницу суммируем с отсчетом от нуля вправо.

**Показатель преломления минерала.** Для оценки показателя преломления минерала используются следующие оптические

эффекты: 1) рельеф минерала; 2) шагреневая поверхность («шагрень»), 3) полоска Бекке.

*Рельеф минерала* — это оптический эффект, свойственный кристаллам, показатель преломления которых отличается от показателя преломления окружающей среды — соседних минералов или канадского бальзама. Минерал с показателем преломления более высоким или более низким, чем у окружающей среды, визуально выделяется вследствие явлений преломления и полного внутреннего отражения лучей света на его границе: выглядит окруженным теневой полоской, более толстым, рельефно выступающим над поверхностью шлифа. Рельеф может быть положительным ( $N_m > N_{к.б.}$ ) и отрицательным ( $N_m < N_{к.б.}$ );  $N_m$ ,  $N_b$  — показатели преломления соответственно минерала и канадского бальзама (если минерал контактирует с бальзамом). Рельеф выглядит тем резче, чем больше отличие показателей преломления минерала и окружающей среды.

*Шагрневая поверхность* — эффект проявления микрорельефа и трещин на поверхности минералов, заметно отличающихся по показателю преломления от канадского бальзама. При шлифовании препарата минеральные зерна приобретают микроскопические трещинки, бугорки и ямки, заполняемые канадским бальзамом. У минералов с показателями преломления, близкими к бальзаму, эти неровности незаметны: поверхность зерен освещается равномерно и выглядит гладкой. Если же показатель преломления минерала отличается от показателя канадского бальзама более чем на 0,020, то микрорельеф поверхности зерен проявляется за счет преломления света неровностями: поверхность зерна кажется шероховатой, мелкобугристой, как шагреневая кожа. Чем больше различие показателей преломления минерала и канадского бальзама, тем резче выражена шагрень.

*Полоска Бекке.* Большое значение в кристаллооптических исследованиях имеет метод сравнения показателей преломления двух соприкасающихся минералов (веществ), предложенный Ф. Бекке в 1893 г. Сравнение производится по перемещению полоски Бекке — световой полоски, которая появляется на границе двух сред, если их показатели преломления различаются более чем на 0,001.

Для оценки показателя преломления минерала с помощью полоски Бекке используют границу изучаемого минерала и другого минерала или канадского бальзама:

1. Выбираем участок контакта исследуемых минералов и устанавливаем его в центр поля зрения.

2. Устанавливаем объектив с увеличением  $20\times$  или выше, опускаем осветительное устройство и прикрываем апертурную диафрагму для увеличения контрастности контакта.

3. Опуская и поднимая предметный столик, наблюдаем за перемещением световой полоски на границе сред (полоски Бекке).

*Вывод.* При опускании столика микроскопа светлая полоска на границе соприкасающихся минералов движется в сторону минерала с большим показателем преломления, при поднимании столика — в сторону среды с меньшим показателем преломления.

## **Второй этап исследования с анализатором (в скрещенных николях)**

**Погасание.** Явление погасания минерала связано с прохождением света через систему поляризатор — кристалл — анализатор.

Для определения угла погасания (угасания) выполняют следующие действия:

1. Выбирают зерно минерала с одной системой спайности или другим линейным кристаллографическим элементом (ось удлинения, грань, двойниковый шов и пр.) и наиболее высокой интерференционной окраской, устанавливают зерно в центр поля зрения, проверяют центрировку объектива.

2. Поворотом столика устанавливают направление трещин спайности (иной кристаллографический элемент) параллельно вертикальной нити окулярного креста, снимают и записывают отсчет по лимбу столика.

3. Поворачивают зерно в ближнюю сторону до положения полного погасания и снимают второй отсчет по лимбу.

*Выводы.* 1. Угол погасания равен разности отсчетов по лимбу (измеренный таким образом угол погасания будет  $\leq 45^\circ$ ).  
2. Если в положении параллельно нити креста зерно находится

в положении погасания (угол погасания  $0^\circ$ ), то погасание минерала прямое.

**Ориентировка осей оптической индикатрисы.** Определение угла погасания в случае измерения его в ориентированном разрезе имеет большое практическое значение для диагностики минералов.

Определение оси индикатрисы в положении погасания:

1. В положении погасания относительно вертикальной нити креста зарисовываем зерно минерала, отмечаем направления осей индикатрисы (параллельно нитям окуляра, параллельным колебаниям света в николях), показываем трещины спайности и измеренный угол погасания (чтобы лучше видеть спайность, зарисовку можно делать, выключив анализатор в положении погасания).

2. Поворачиваем столик на  $45^\circ$  против часовой стрелки от положения максимального просветления зерна в направлении ЮВ–СЗ.

3. Вводим в прорезь тубуса, расположенную над объективом, компенсатор и по повышению или понижению интерференционной окраски определяем наименование оси индикатрисы, расположенной параллельно длинной оси компенсатора. Подписываем наименования осей индикатрисы на зарисовке.

*Вывод.* Записываем результаты измерения угла погасания. Например,  $c : N_g = 15^\circ$  или  $c : N_p = 15^\circ$ , или  $b : N_p = 15^\circ$ : угол между спайностью (координатными осями кристалла  $a, b, c$ ) и осью индикатрисы  $N_g$  ( $N_p$ ) равен  $15^\circ$ .

**Определение знака удлинения.** Исследование знака удлинения проводят с помощью компенсатора (кварцевого клина), как и при определении наименования оси индикатрисы в положении погасания (см. выше).

При определении знака удлинения минерала выполняют следующие действия:

1. Выбирают отчетливо удлиненное зерно минерала (зерно со спайностью вдоль удлинения) и устанавливают его в центр поля зрения.

2. В режиме «с анализатором» устанавливают зерно в положение погасания относительно вертикальной нити окуляра.

3. Поворачивают зерно на  $45^\circ$  против часовой стрелки, вводят в косую прорезь тубуса компенсатор и наблюдают изменение интерференционной окраски зерна.

*Вывод.* Если окраска повысилась на один порядок, то положение индикатрис в минерале и компенсаторе совпало и удлинение отрицательное; если окраска понизилась на один порядок, то положение индикатрисы в минерале обратно положению в компенсаторе, удлинение положительное.

*Примечание.* Характер изменения интерференционной окраски минерала можно уточнить, повернув зерно на 90°; если окраска понизится в пределах одного порядка относительно первого положения — знак удлинения «-», если повысится — знак «+».

Более тонкие методы исследования минералов под микроскопом приведены в литературе [Лодочников; Маракушев и др.; Штефан].

По итогам проведенных исследований делается логический вывод о том, какой конкретный минерал составляет горную породу. Идентификация минералов по диагностическим признакам производится с помощью таблиц [Лодочников; Трегер].

***Представление результатов.*** Описание каждого минерала записывается по пунктам (см. план исследования минерала в шлифе). В выводе на основании полученных в ходе работы диагностических признаков и параметров и с использованием таблиц [Лодочников; Трегер] делается заключение о минералах, слагающих горную породу.

Результатом исследования минералов в горных породах под микроскопом будет умение их определять и классифицировать по типам пород:

1. Минералы магматических пород:

— пороодообразующие — кварц, полевые шпаты, амфибол, оливин, слюды, пироксен;

— акцессорные минералы — апатит, циркон, сфен, турмалин, магнетит, гранат;

— вторичные минералы — карбонаты, хлориты, серпентины, глинистые минералы.

2. Минералы осадочных пород — окислы и гидроокислы, карбонаты, сульфаты, галоиды, фосфатные и глинистые минералы.

3. Минералы метаморфических пород — андалузит, sillиманит, ставролит, скаполит, гранаты, везувиан и др.

## Работа 3

### Изучение гипергенных изменений минералов

Гипергенез — это совокупность процессов физико-химического изменения горных пород в верхних частях земной коры и на ее поверхности, протекающих под воздействием атмосферно-климатических факторов. Возникающие при этом процессы распространяются на некоторую глубину, образуя зону гипергенеза. Нижняя ее граница условно проводится по кровле верхнего горизонта подземных вод, а в верхней части зоны располагается современная почва (почвенно-растительный слой). Почва и кора выветривания (как продукты соответственно влажного и жаркого климата) связаны между собой постепенными переходами.

При гипергенезе происходит глубокое изменение не только физического состояния, механических свойств и минерального состава горных пород. Под воздействием свободного кислорода, углекислоты и органических кислот почвенные и грунтовые воды оказывают растворяющее действие на минералы и горные породы. Горные породы при этом изменяют первоначальный облик, теряют прочность, превращаясь в глинисто-песчаную или щебнистую пестроокрашенную, грубую по сортировке обломочного материала кору выветривания. Гипергенные процессы обусловлены воздействием внешних сил: атмосферы, энергии солнечного излучения, гравитации, увлажнения и деятельности организмов. В связи с этим в зоне гипергенеза на горные породы воздействуют физические факторы и химическое разрушение.

В зоне гипергенеза всегда присутствуют два принципиально различных комплекса минеральных образований: 1) материнские породы (субстрат) и 2) продукты гипергенеза.

В зависимости от условий процессы гипергенеза можно разделить на три группы:

1) *поверхностный гипергенез* — комплекс явлений и процессов, происходящих непосредственно на поверхности суши или связанных с проникающими в толщи пород инфильтрационными водами;



2) *глубинный гипергенез* — комплекс явлений и процессов, происходящих ниже земной поверхности и связанных с воздействием подземных вод, движущихся по водоносным горизонтам или восходящих по проницаемым зонам (заметим, что эти воды также имеют поверхностное происхождение);

3) *подводный гипергенез* (или *гальмиролиз*) — комплекс явлений и процессов, происходящих на дне морей и океанов при взаимодействии морских вод с горными породами.

Формирование продуктов поверхностного гипергенеза связано с процессами выветривания.

Кора выветривания — специфический продукт физического и химического процессов гипергенеза. Ее формирование проходит в несколько стадий (рис. 1.3).






	Гибсит-гематит-гетитовая
	Каолинитовая
	Гидролюдисто-монтмориллонит-бейделлитовая
	Обломочная
	Материнские породы

Рис. 1.3. Стадии развития коры выветривания [Полынов]

Первая стадия — *обломочная*, характеризуется физическим выветриванием материнских пород, химических

преобразований в пределах коры не происходит. Дезинтеграция горных пород, образование в них трещин обуславливает, с одной стороны, их хорошую водопроницаемость, с другой — резко увеличивает реакционную поверхность выветривающихся пород. Это создает условия для активизации разнообразных физико-химических, химических и биогеохимических процессов, сопутствующих химическому выветриванию.

Вторая стадия — *сиаллитная*, или *обызвесткованная*, знаменуется началом процесса химического выветривания, сопровождающимся извлечением из кристаллохимических структур силикатов щелочных и щелочноземельных элементов (главным образом кальция и натрия). При этом за счет осаждения выносимого кальция в выветривающейся породе образуются пленки, налеты и конкреции кальцита («обызвесткованный элювий»). Силикаты на этой стадии начинают гидратироваться и подвергаться гидролизу, при этом гидролиз силикатов со сложной кристаллохимической структурой сопровождается не полным их разрушением, а распадом на отдельные «блоки», из которых затем возникают новые минералы: происходит трансформация в глинистые минералы (гидрослюды, монтмориллонит, бейделлит и др.). За пределы коры выветривания водами выносятся лишь наиболее подвижные элементы — хлор и частично сера.

Третья стадия — *кислая сиаллитная*, сопровождается дальнейшим, уже весьма значительным преобразованием минералов: за счет материнских пород образуется «сиаллитный элювий», получивший название по преобладающим химическим элементам Si и Al. Для этой стадии характерны богатые алюминием глины — каолинит, галлуазит и железосодержащие оксиды и гидроксиды — лимонит и пр. Продукты выветривания лишаются оснований (CaO, Na<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>O, MgO), выносимых из коры фильтрующимися сквозь нее водами.

Четвертая стадия — *аллитная*, проявлена в интенсивном вносе из продуктов выветривания не только щелочных и щелочноземельных элементов, но и кремнезема силикатов, вследствие чего в пределах коры остаются наименее подвижные соединения — водные окислы алюминия и железа, образующие *латериты*. При наличии определенного состава исходных пород конечные продукты

выветривания обогащаются оксидами алюминия (отсюда и название аллитной стадии). Так, в условиях жаркого климата и высокой влажности происходит преобразование полевых шпатов не только до уровня каолинистых глин, но и далее, что приводит к формированию *бокситов* — алюминиевой руды, состоящей из гидроксидов алюминия (до 40–60 %), оксидов железа и кремния.

Состав конечных продуктов химического выветривания определяется как степенью эволюции коры, так и составом материнских пород. Для кор, развивающихся по ультраосновным породам, характерно обогащение железом, содержащимся в большом количестве в материнских породах. Иногда такие коры используются в качестве железной руды. Другим элементом, способным образовывать промышленные концентрации, является никель, накапливающийся в нижних частях коры выветривания за счет осаждения из фильтрующихся водных растворов.

В верхней части гипергенеза процесс выветривания протекает совместно с процессом почвообразования. Интенсивность и направленность выветривания (химического) главным образом связаны с химическим составом исходных пород, их строением, а также климатическими условиями и режимом поверхностных и подземных вод на данной территории. При этом различные минералы характеризуются разной степенью устойчивости при выветривании (табл. 1.1).

Таблица 1.1

**Относительная устойчивость минералов в зоне гипергенеза  
(по Кухаренко, Миллеру)**

Группа	Породообразующие минералы	Акцессорные минералы
Весьма устойчивые	Кварц	Хромшпинелиды, топаз, турмалин, брукит, рутил, шпинель, платина, золото, циркон, корунд, алмаз
Устойчивые	Мусковит, ортоклаз, микроклин, кислые плагиоклазы	Гранаты, гематит, магнетит, колумбит-танталит, сфен, дистен, барит, ильменит, касситерит

Группа	Породообразующие минералы	Акцессорные минералы
Малоустойчивые	Амфиболы, пироксены	Вольфрамит, шеелит, апатит, андрадит, ортит, актинолит, эпидот, хлоритоиды
Неустойчивые	Основные плагиоклазы, фельдшпатоиды, щелочные амфиболы, биотит, авгит, оливин, глауконит, доломит, кальцит, гипс	Пирротин, сфалерит, халькопирит, арсенопирит, киноварь, пирит

Вне зависимости от различий состава субстрата существует определенная закономерность в подвижности элементов (следовательно, и в последовательности их выноса из коры), позволившая выделить ряды миграции элементов в корях выветривания (табл. 1.2).

Таблица 1.2

**Ряды миграции химических элементов в коре выветривания  
силикатных пород**

Интенсивность миграции	Химические элементы
Очень сильная	Cl, S, B, Br, I
Сильная	Ca, Na, Mg, Sr, Zn, Mo, U, F
Средняя	Si, K, Mn, Ba, Ni, Co, Cu
Слабая и очень слабая	Al, Fe, Ti, Zr, Y, Nb, Ta, Sn, Pt

**Цель работы** — оценить степень устойчивости к выветриванию породообразующих минералов в зоне гипергенеза, определить степень и тип выветривания горной породы.

**Материалы и оборудование.**

1. Эталонные коллекции выветрелых горных пород.
2. Соляная кислота (5 %).
3. Лупа.
4. Магнит (или компас).
5. Минералы шкалы твердости Мооса.

### ***Содержание и ход работы.***

1. Изучить минеральный состав выветрелой горной породы в образце на основании суммы диагностических признаков (см. работу 1).

2. Оценить степень выветривания горной породы:

а) описать морфологию и степень развития пелитизации полевых шпатов в почвообразующих гранитах (сильная или слабая);

б) исследовать гипергенное замещение породообразующих фемических минералов продуктами их конечного гидролиза (если таковые имеются) — опалом, магнезитом, гетитом и др.;

в) составить уравнение реакций замещения исходных минеральных комплексов. Например: преобразование (гидролиз) полевого шпата (ортоклаза) в гидрослюда и в конечном итоге в глинистый минерал (каолинит):  $K(AlSi_3O_8) \rightarrow (K, H_2O) Al_2(OH)_2 \cdot (AlSi_4O_{10}) \times nH_2O \rightarrow Al_4 \cdot (OH)_8 \cdot (Si_4O_{10})$  или окисление сульфида железа (пирита) до лимонита:  $FeS_2 + nO_2 + nH_2O \rightarrow Fe_2(SO_4)_2 \rightarrow Fe_2O_3 \times nH_2O$  и др.;

г) описать структуру породы;

д) определить группу гипергенеза (поверхностный, глубинный, подводный);

е) определить стадии развития коры выветривания (рис. 1.3).

3. На основе описания структуры и минерального состава образца (продукта гипергенеза) определить исходную породу (субстрат), а также на основе состава исходной породы спрогнозировать ее устойчивость при выветривании в разных группах гипергенеза.

***Представление результатов.*** Описание продукта выветривания горной породы по плану:

1) минеральный состав породы (с описанием диагностических признаков каждого минерала);

2) описание степени преобразования исходных минералов (гидролиз, окисление и т. д.);

3) уравнения реакций преобразования исходных минералов;

4) структура породы;

5) группа гипергенеза;

6) стадия развития коры выветривания.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Каким образом можно установить в стандартное положение поляризатор, используя зерно биотита (сечение  $\perp (001)$ )?
2. Если показатель преломления оптически изотропного минерала существенно меньше 1,540, какой оптический рельеф будет иметь зерно этого минерала в шлифе при наблюдении в проходящем свете?
3. Как отличаются по оптическим свойствам калиевые и феррические минералы?
4. Какие способы определения состава плагиоклазов по их оптическим свойствам вы знаете?
5. Как зависит показатель преломления вулканического стекла от содержания  $\text{SiO}_2$ ?
6. Назовите известные вам диагностические признаки эффузивных, интрузивных, осадочных, метаморфических пород.
7. Каким образом можно установить последовательность образования минералов при описании петрографических шлифов?
8. Поясните содержание термина «псевдоморфоз гетита по пириту».
9. От чего зависят степень и характер пелитизации микроклинпертита в гранитах?
10. Составьте ряд минералов по степени их устойчивости к выветриванию.
11. Как отличить остаточный (элювиальный) опал от опала инфильтрационного генезиса?

## 2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ПОЧВ

В почвоведении для оценки состояния почвы применяется большое количество характеристик, отражающих ее физическое состояние и химический состав. Большинство методов анализа стандартизировано [ГОСТ 17.4.4.02-84; ГОСТ 26483-85; ГОСТ 29269-91; ГОСТ 6709-72; ГОСТ 26213-91], что позволяет получать сравнимые результаты независимо от того, где и кем они получены. Исследователю достаточно сослаться на примененный метод. Задачей физико-химического анализа почв является получение данных, которые позволяют выявить генезис и свойства почв и предложить способы повышения их плодородия.

В рамках лабораторного практикума студенты осваивают весь цикл работ — от подготовки почвы к анализу и получения количественных характеристик ее основных свойств до представления в систематизированном виде полученных результатов.

### 2.1. ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВ

#### Работа 1

#### **Общие правила работы в химической лаборатории и подготовка почвы к химическому анализу**

**Цель работы** — подготовить почвенный образец для дальнейшего определения в нем содержания различных химических элементов и установления физико-химических характеристик почвы путем удаления корней, новообразований и включений и измельчения образца. Измельчение вещества перед анализом дает возможность более полного взаимодействия анализируемого вещества с реактивами.

**Методы работы.** Подготовка образца осуществляется по стандартной методике механическим отбором включений, растиркой и просеиванием мелкозема.

**Оборудование.**

1. Сито с диаметром отверстий 1 мм.
2. Сито с диаметром отверстий 0,25 мм.
3. Ступка.
4. Пестик.
5. Маркер по стеклу.
6. Калька.
7. Пакеты полиэтиленовые.

**Ход работы.** Прежде всего почву готовят для отбора аналитической пробы. Для этого почвенный образец массой 600–750 г размещают на листе бумаги. Удаляют из него корни, включения и новообразования. Дернину тщательно отряхивают от комочков почвы. Крупные комки либо разламывают руками, либо дробят в фарфоровой ступке (рис. 2.1) до комков диаметром 5 мм. Цель такого измельчения — получить более однородный образец и иметь возможность тщательно перемешать его при взятии средней пробы, которая должна характеризовать все свойства исследуемой почвы.

Среднюю пробу берут *квартованием*. Для этого измельченный дроблением образец после перемешивания располагают в виде квадрата или прямоугольника и делят диагоналями шпателем на четыре равные части. Две противоположные части можно высыпать



Рис. 2.1. Ступка лабораторная

в картонную коробку для дополнительных определений (структуры, прочности). Ввиду того что в ходе лабораторного практикума эти исследования не проводятся, работа продолжается с полным почвенным образцом.

Далее отбирается *лабораторная проба* на определение органического углерода и азота. Для этого почву тщательно



перемешивают и распределяют по листу ровным слоем толщиной 0,5 см в виде квадратов или прямоугольников, которые делят горизонтальными и вертикальными линиями на небольшие квадраты или прямоугольники площадью  $3 \times 4 \text{ см}^2$ .

Из каждого квадрата или через один берут шпателем небольшое количество почвы, захватывая ее на всю глубину слоя. Для определения органического углерода и азота требуется около 10 г почвы (десертная ложечка). Если за один прием не удастся набрать это количество, то почву перемешивают, снова делят на квадраты и берут пробы еще раз.

Взятую пробу распределяют на бумаге, тщательно отбирают корешки с помощью пинцета, раздавливая им комочки. Многочисленные корешки почвы дернового горизонта удаляют наэлектризованной стеклянной палочкой. Для этого палочку натирают кусочком шерстяной ткани и быстро проводят ею над распределенной тонким слоем почвой. Мелкие корешки притягиваются. Палочку *нельзя держать слишком близко к почве* во избежание притягивания к ней илстых частиц!

После отбора корешков почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 0,25 мм. Частицы почвы, остающиеся на сите, растирают в ступке с помощью пестика и повторно просеивают. Пробы тщательно перемешивают. Далее пробы хранят в пакетике из кальки с обозначением номера разреза и глубины горизонта.

Оставшуюся после взятия лабораторной пробы на С и N почву по частям растирают пестиком в фарфоровой ступке. Растирают по возможности раздавливанием. Измельченный образец просеивают через почвенное сито с отверстиями диаметром 1 мм. Цель просеивания — отделение мелкозема от обломков минералов и горных пород. Почвенные агрегаты, оставшиеся на сите, снова измельчают в фарфоровой ступке и снова просеивают.

***Представление результатов.*** Результатом является подготовленный почвенный образец. Просеянную почву хранят в полиэтиленовых пакетах, этикетки завязывают в узел во избежание контакта с почвой, на пакете маркером по стеклу дублируется этикетка. Перед взятием навески образец необходимо хорошо перемешивать!

## Работа 2

### Определение гигроскопической влаги в почве

**Цель работы** — установить содержание в почве влаги, адсорбированной на поверхности почвенных частиц из воздуха и доступной для растений. Гигроскопическая влага находится в равновесии с водяным паром атмосферы и характеризует влажность воздушно-сухой почвы. Ее величина зависит от содержания в почве гумуса и глинистых частиц. Процентное содержание влаги используется для пересчетов результатов анализа на абсолютно сухую навеску.

**Методы работы.** Содержание гигроскопической влаги устанавливают гравиметрическим (весовым) методом по разнице между массами воздушно-сухой навески почвы и навески, высушенной при 100–105 °С.

*Оборудование.*

1. Бюксы стеклянные.
2. Весы аналитические.
3. Шкаф сушильный.
4. Эксикатор.
5. Маркер по стеклу.

**Ход работы.** Чисто вымытый тонкий стеклянный бюкс с шлифованной стеклянной крышкой, предварительно высушенный при 100–105 °С, взвешивают на аналитических весах с точностью до 0,0001 г. Затем наполняют его примерно до половины воздушно-сухой почвой, пропущенной через сито с отверстиями диаметром 1 мм, и снова взвешивают с ранее указанной точностью.

Открытый бюкс с почвой ставят в сушильный шкаф, причем крышку устанавливают сверху в вертикальном положении. И крышку, и стаканчик следует подписать маркером по стеклу. Почву высушивают в сушильном шкафу при 100–105 °С в течение 5 ч.

По окончании высушивания бюксы вынимают щипцами, закрывают крышками и ставят в эксикатор для охлаждения. Эксикатор аккуратно переносят в весовую комнату, *придерживая большими пальцами его крышку, смазанную вазелином*. После охлаждения в течение 20–30 мин закрытые бюксы взвешивают на аналитических

весах и по потере в весе вычисляют содержание гигроскопической влаги в почве.

**Представление результатов.** Результаты всех взвешиваний и расчеты должны быть представлены в форме табл. 2.1.

Таблица 2.1

**Результаты взвешиваний и расчеты**

№ об- разца	Масса бюкса $a$	Масса бюкса с ис- ходной наве- ской $b$	Навеска почвы $b - a = c$	Результаты взвешива- ния после сушки $d$	Масса абсолют- но сухой почвы $d - a = e$	Потеря в массе почвы $c - e = f$	Содер- жание гигро- влаги ( $f/e$ ) 100 %

## Работа 3

### Определение pH водной и солевой вытяжки

**Цель работы** — определить реакцию почвенного раствора с целью оценки ее благоприятности для произрастания растений, растворимости различных химических соединений, развития микрофлоры.

Кислая и щелочная среды почвенного раствора губительны для живущих в почве полезных микроорганизмов, а нейтральная, слабокислая и слабощелочная реакции благоприятны. Для большинства культурных растений наиболее приемлемыми являются нейтральная и слабокислая реакции. Реакция почвенного раствора оказывает влияние на растворимость различных химических веществ, определяя химический состав почвы.

Кислотность водной вытяжки характеризует актуальную реакцию почв, а солевой — почвенную обменную кислотность.

**Методы работы.** Определяют pH в водной и солевой суспензиях почвы потенциометрическим методом (с помощью pH-метра).

**Реактивы.** 1 н KCl.

*Оборудование.*

1. Весы технические.
2. Стаканчики на 50 мл.
3. рН-метр.
4. Маркер по стеклу.

**Ход работы.** На технических весах взвешивают две навески по 10 г почвы, просеянной через сито диаметром 1 мм. Навески помещают в химические стаканчики и приливают мерной колбой к одной из них 25 мл воды, а к другой — 25 мл 1 н раствора хлорида калия. Вытяжки оставляют на сутки. Через сутки прямо в суспензии, не взбалтывая осадок, определяют рН водной и солевой вытяжек с помощью рН-метра.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать запись полученных значений рН почвенных вытяжек и их качественную оценку.

## Работа 4

### Определение легкорастворимых фосфатов

**Цель работы** — определить количество доступных для растений фосфатов.

В растения фосфор поступает исключительно из почвы, где он находится в форме органических соединений, либо в виде минеральных, главным образом фосфорнокислых солей кальция, магния, алюминия и железа. Установлено, что растения в состоянии поглощать не только водорастворимые, но и растворимые в слабых кислотах фосфорные соли.

**Методы работы.** Фосфаты переводятся в растворимую форму, окрашиваются и определяются количественно на спектрофотометре.

**Реактивы.**

1) 0,2 н HCl. Берут 16,4 мл концентрированной HCl, разбавляют дистиллированной водой до 1 л и перемешивают.

2) Раствор молибденовокислого аммония в 10 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . В колбу из термостойкого стекла, поставленную на асбест, наливают 500 мл дистиллированной воды и осторожно вливают в нее при помешивании 280 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  плотностью 1,84. Берут 25 г  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , растворяют в 200 мл нагретой до 60 °С дистиллированной воды.

При наличии механических примесей раствор фильтруют. Далее охлаждают до комнатной температуры. Водный раствор молибденовокислого аммония вливают небольшими порциями при постоянном помешивании в раствор серной кислоты. После охлаждения до комнатной температуры общий объем раствора доводят дистиллированной водой до 1 л.

3) Раствор двуххлористого олова. Берут 2,5 г  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  и растворяют при нагревании в 24 мл  $\text{HCl}$  плотностью 1,19. После охлаждения приливают дистиллированную воду до 100 мл.

4) Индикатор  $\alpha(\beta)$ -динитрофенол. Взять 0,25 г соли  $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_5\text{N}_2$ , растворить в 100 мл воды при нагревании до 50 °С. На следующий день необходимо слить прозрачный раствор с выпавших кристаллов и использовать в работе, а кристаллы сохранить.

5) 10 %  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

6) 10 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

7) Образцовый раствор  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Навеску  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , равную 0,1917 г, растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды в мерной колбе вместимостью 1 л, доводят водой до метки, перемешивают и получают раствор с содержанием 0,1 мг  $\text{P}_2\text{O}_5$  в 1 мл. Он используется как запасной. Далее из него путем разбавления получают рабочий раствор с содержанием 0,01 мг  $\text{P}_2\text{O}_5$  в 1 мл.

Из рабочего раствора готовят серию эталонных растворов (табл. 2.2). Берут 10 мерных колб вместимостью 50 мл. В каждую колбу наливают с помощью бюретки указанные ниже количества рабочего раствора  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  с содержанием 0,01 мг  $\text{P}_2\text{O}_5$  в 1 мл.

Из каждого эталонного раствора берут аликвоту 5 (10) мл и проводят окрашивание по той же схеме, что и для исследуемых растворов.

## Эталонные растворы

№ эталона	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Количество рабочего раствора, мл	0,5	1	2	3	4	5	10	15	20	25
Содержание $P_2O_5$ , мг в 50 мл	0,005	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25

*Оборудование.*

1. Весы технические.
2. Мерные колбы на 50 мл.
3. Конические колбы на 100 мл.
4. Пипетка Мора на 25 мл.
5. Воронки маленькие.
6. Фильтры.
7. Маркер по стеклу.
8. Спектрофотометр.

**Ход работы.** Определение проводится в вытяжке Кирсанова. Для этого фосфаты извлекают из почвы раствором  $HCl$  и переводят с помощью молибденовокислого аммония в серной кислоте в окрашенный комплекс («молибденовую синь»). Затем количество легкорастворимых фосфатов устанавливают фотоколориметрическим методом. Суть метода заключается в том, что с помощью фотоэлектроколориметра проводят сравнение оптической плотности исследуемого раствора с оптическими плотностями эталонных растворов, содержащих известные концентрации определяемого вещества.

Воздушно-сухую почву (5 г), пропущенную через сито с отверстиями диаметром 1 мм, отвешивают на технических весах, помещают в коническую колбочку вместимостью 100 мл и приливают пипеткой Мора 25 мл 0,2 н раствора соляной кислоты. Содержимое колбочки взбалтывают в течение 1 мин, оставляют на 15 мин, а затем фильтруют в заранее приготовленную чистую колбочку через

воронку с обычным фильтром. Берут пипеткой 10 мл фильтрата, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, разбавляют дистиллированной водой примерно до половины ее объема. Добавляют в колбу индикатор  $\alpha$ - или  $\beta$ -динитрофенол, для нейтрализации раствора по нему до желтой окраски прибавляют по каплям 10 % раствор аммиака и обесцвечивают этот раствор каплями 10 % раствора серной кислоты.

После этого приливают 2 мл 2,5 % раствора молибденовокислого аммония в серной кислоте и перемешивают содержимое колбы круговыми движениями. Прибавляют три капли раствора хлористого олова в качестве восстановителя, доводят объем раствора дистиллированной водой до метки, закрывают пробкой и перемешивают несколько раз переворачиванием колбы.

Сравнение окрасок проводят спустя 5–10 мин после добавления восстановителя с помощью спектрофотометра (рис. 2.2).

Измерение оптической плотности эталонных и анализируемых растворов должно быть проведено с одним и тем же светофильтром (красным) или на одной длине волны (710 нм), в одной кювете, с одним нулевым раствором и из мерных колб одинаковых объемов.



Рис. 2.2. Спектрофотометр двухлучевой

**Внимание!** Если окраска окажется слишком слабой, определение повторить с бóльшим количеством жидкости. Если окраска раствора не синяя, а зеленоватая, обратитесь к преподавателю.

Вычисление концентрации определяемого вещества в растворе проводится графическим методом. Для этого по величине оптической плотности эталонных растворов вычерчивают калибровочный график. По графику находят концентрацию определяемого вещества.

Калибровочный график вычерчивают, откладывая на оси ординат величины оптической плотности эталонных растворов, а на оси абсцисс — концентрацию этих растворов, после чего проводят прямую от начала координат через пересечение перпендикуляров, восстановленных из отложенных на оси абсцисс и на оси ординат точек (рис. 2.3).

На графике указывают, для какого элемента (соединения) он составлен, с каким светофильтром и в какой кювете (длина рабочей грани) проведены измерения оптической плотности, на какой объем рассчитана концентрация эталонного раствора.

Измерив оптическую плотность анализируемого раствора, находят на оси ординат точку, соответствующую данному значению оптической плотности, ведут из нее линию и опускают из нее перпендикуляр на ось абсцисс. По точкам пересечения отсчитывают концентрацию определяемого вещества в данном растворе и пересчитывают на 100 г почвы.

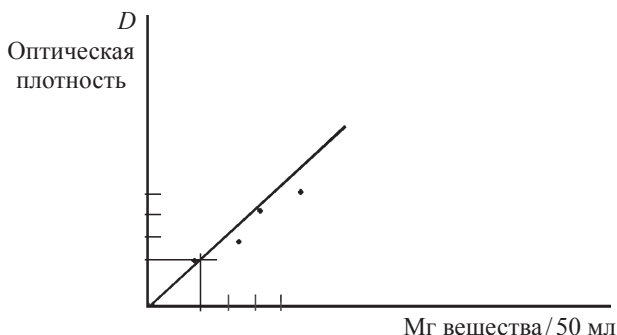


Рис. 2.3. Калибровочный график

*Пример расчета.* Аликвота, равная 10 мл, соответствует 2 г почвы. В этом случае для пересчета содержания  $P_2O_5$  на 100 г найденное по калибровочному графику значение содержания фосфатов в растворе следует умножить на 50.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать калибровочный график, расчеты содержания  $P_2O_5$  в 100 г почвенных образцов и качественную оценку полученных результатов с учетом данных, представленных ниже.



*При содержании подвижных фосфатов менее 10 мг в 100 г почвы растения испытывают недостаток фосфора; при содержании 10–20 мг степень их нуждаемости в фосфорных удобрениях оценивается как средняя; если содержание фосфатов больше 20 мг, считается, что они достаточно обеспечены фосфором. Потребность в доступных фосфатах снижается в ряду растений: овощные — корнеплоды — зерновые.*

## Работа 5

### Определение гумуса почв

**Цель работы** — определить в почве содержание гумуса, важнейшего фактора плодородия.

Органические вещества в значительной степени определяют направление процессов почвообразования. На процессы гумусообразования и гумусонакопления существенно влияют биоклиматические условия. Накопление органического углерода в почве в виде гумуса обуславливается деятельностью живых организмов. Гумусовые вещества способствуют формированию оптимальной для растений почвенной структуры, определяя ряд ее физических и химических особенностей, а также являются важнейшим резервом зольных элементов в почве.

**Методы работы.** Определение проводится методом Тюрина, основанным на окислении гумуса почв избытком  $K_2Cr_2O_7$ . Окисление происходит в сильноокислой среде и сопровождается восстановлением шестивалентного хрома в трехвалентный:



Избыток бихромата в растворе после окисления гумуса титруют раствором соли Мора, восстанавливая избыток шестивалентного хрома до трехвалентного, с использованием фенилантраниловой кислоты в качестве индикатора:



По разности бихромата до и после окисления находят содержание органического углерода в почве.

#### *Реактивы.*

1) 0,4 н раствор  $K_2Cr_2O_7$  в разбавленной (1 : 1) серной кислоте. Навеску 40 г кристаллического  $K_2Cr_2O_7$  полностью растворяют примерно в 500 мл дистиллированной воды, затем раствор переносят в мерную колбу, доводят объем до 1 л и переливают в большую колбу из термостойкого стекла. К этому раствору под тягой небольшими порциями (примерно по 100 мл) приливают 1 л концентрированной  $H_2SO_4$  при постоянном и осторожном помешивании. Дожидаются полного охлаждения раствора, переливают его в емкость с притертой крышкой.

2) 0,2 н раствор соли Мора. Берут 80 г соли  $(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6H_2O$  (побуревшие кристаллы непригодны, годятся только голубые), помещают в колбу и заливают примерно 700 мл 1 н раствора  $H_2SO_4$ . Раствор взбалтывают до полного растворения соли, фильтруют и доводят его объем в мерной колбе до 1 л, после чего тщательно перемешивают. Готовый раствор хранят в темном месте, его титр со временем меняется, поэтому *при каждом использовании он определяется заново*.

3) 0,1 н раствор  $KMnO_4$ . Готовят из фиксанала.

4) Раствор фенилантраниловой кислоты  $C_{13}H_{11}O_2N$ . Фенилантраниловую кислоту в количестве 0,2 г перемешивают в фарфоровой чашке стеклянной палочкой с несколькими миллилитрами 0,2 % раствора  $Na_2CO_3$  (всего готовят 100 мл  $Na_2CO_3$ ) до пастообразного состояния, а затем добавляют остальное количество раствора соды.

#### *Оборудование.*

1. Весы аналитические.
2. Маркер по стеклу.
3. Бюретки.
4. Конические колбы на 100 мл.
5. Холодильнички.
6. Плита нагревательная.
7. Песочные часы на 5 мин.

**Ход работы.** На аналитических весах в двух повторностях берут навески почвы 0,05–0,5 г (в зависимости от интенсивности ее окраски) с диаметром частиц меньше 0,25 мм на кальке, переносят их в сухие конические колбы объемом 100 мл, стараясь, чтобы навеска оказалась на дне колбы, а не на ее стенке. После высыпания навески кальку взвешивают повторно и по разности в массе кальки с почвой и без нее находят точную величину взятой навески.

Навески *по каплям* (ввиду большой вязкости жидкости) заливают 10 мл 0,4 н раствора бихромата калия в разбавленной (1 : 1) серной кислоте, каждый раз спуская раствор от нулевого деления бюретки. Медленное и одинаковое по времени приливание раствора бихромата в колбы с навесками почвы — одно из условий получения воспроизводимых результатов!

Содержимое колб осторожно перемешивают круговым движением, следя за тем, чтобы частицы почвы не остались на их стенках, и закрывают маленькими воронками или холодильниками для охлаждения водяных паров.

Колбы кипятят на нагревательной плите (рис. 2.4). Следует помнить, что это очень ответственная операция. При нагревании сначала выделяются мелкие пузырьки поглощенного почвой воздуха и  $\text{CO}_2$ , а затем начинается кипение. Кипение раствора должно быть еле заметным, т. е. выделение пузырьков  $\text{CO}_2$ , образующихся от окисления органических веществ почвы, должно быть обильным, но сами пузырьки должны быть чуть больше макового зернышка.



Рис. 2.4. Нагревательная плита

Кипятить раствор необходимо точно 5 мин (следить по песочным часам). Отсчет времени производится с появления первого относительно крупного пузырька газа. Спокойное и слабое кипение протекает при температуре около 140–180 °С, когда хромовая кислота еще не разлагается. При бурном кипении происходит испарение воды. Кислотность раствора увеличивается, и часть хромовой кислоты разрушается. Это сказывается на точности определения.

В процессе кипячения окраска раствора изменяется от оранжевой до буровато-коричневой. Появление зеленой окраски будет свидетельствовать о том, что хромовой кислоты или недостаточно для окисления органических веществ, или она полностью израсходована. В этом случае повторяют определение, уменьшив навеску.

По окончании кипячения колбу снимают с плитки и дают ей охладиться. В случае необходимости на этом этапе работу можно прервать и продолжить в другое время.

Для контроля в три колбы насыпают около 0,2 г растертой прокаленной пемзы, которую также заливают 10 мл хромовой смеси и кипятят 5 мин.

Далее обмывают холодильник и горло контрольных колб небольшим количеством воды (из промывалки), прибавляют 5–6 капель фенилантраниловой кислоты в качестве индикатора и титруют 0,2 н раствором соли Мора до перехода окраски в зеленую.

При избытке восстановителя индикатор переходит из окисленной (красно-фиолетовой) в восстановленную (бесцветную) форму, вследствие чего становится заметной зеленая окраска трехвалентного хрома. Поскольку окраска индикатора изменяется резко, соль Мора под конец титрования приливают по каплям, постоянно перемешивая раствор энергичным взбалтыванием.

Для определения нормальности раствора бихромата калия полученный результат титрования усредняют по трем значениям. Исследуемые пробы оттитровываются аналогичным образом.

Нормальность раствора соли Мора устанавливают и проверяют по 0,1 н раствору  $\text{KMnO}_4$ , приготовленному из фиксаналя. Для этого в три колбы наливают через бюретку по 10 мл соли Мора и титруют ее раствором перманганата калия до появления слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать данные о содержании общего органического углерода в почве и перевод полученных значений в содержание гумуса. Поскольку определение углерода проводится в двух повторностях, окончательный результат будет соответствовать их среднеарифметическому значению.

$$N_{\text{соли Мора}} = \frac{N_{\text{KMnO}_4}}{V_{\text{соли Мора}}} \cdot V_{\text{KMnO}_4} = \frac{0,1 \text{ н} \cdot V_{\text{KMnO}_4}}{V_{\text{соли Мора}}},$$

$$N_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7} = \frac{N_{\text{соли Мора}}}{V_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}} \cdot V_{\text{соли Мора}} = \frac{N_{\text{соли Мора}}}{10 \text{ мл}} \cdot V_{\text{соли Мора}}.$$

Процентное содержание углерода вычисляют по формуле

$$\frac{(a \cdot N_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7} - b \cdot N_{\text{соли Мора}}) \cdot 0,003 \cdot 100}{m_{\text{н}}},$$

где  $a$  — количество раствора  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , взятое для окисления органических веществ, мл;  $b$  — количество соли Мора, затраченное на титрование избытка хромовой кислоты, мл;  $m_{\text{н}}$  — навеска воздушно-сухой почвы, г; 0,003 — количество углерода, мг · экв.

Содержание органического углерода в почве обычно принято пересчитывать на содержание гумуса. Для этого процентное содержание углерода умножают на коэффициент, равный 1,724.

## Работа 6

### Определение азота в почве

**Цель работы** — определить содержание в почве общего азота, важнейшего элемента питания для всех растений.

Азот входит в состав органических веществ почвы. Накопление его, так же как и накопление углерода, характеризует почвообразовательный процесс, обусловленный биологическим круговоротом веществ. Поскольку содержание в почве минерального азота

незначительно, количество азота органических веществ почвы принимается за общее его содержание.

**Методы работы.** Определение общего азота проводится по методу Несслера и основано на переводе азота гумусовых веществ в неорганическую форму, которую после окрашивания определяют количественно спектрофотометрическим способом.

Определение проводится в два этапа. Вначале в концентрированной серной кислоте сжигаются гумусовые вещества почвы, с которыми связан азот. Освободившийся азот в форме  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  используется для определения азота на втором этапе работы. Суть метода: с помощью реактива Несслера получить окрашенный раствор (желтого цвета), интенсивность окраски которого зависит от концентрации азота:



Для спектрофотометрического метода необходимо изготовить шкалу образцовых растворов с известным содержанием азота. По калибровочному графику вычисляется содержание азота в исследуемом образце почвы.

#### *Реактивы.*

1) 50 %-й раствор сегнетовой соли. 50 г виннокислого калия  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Для связывания следов аммиака рекомендуют прилить в раствор 5 мл реактива Несслера.

2) Реактив Несслера (имеется в готовом виде).

3) Эталонный раствор на азот. Навеску 0,3820 г  $\text{NH}_4\text{Cl}$  или 0,4720 г  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  помещают в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят водой до метки, тщательно перемешивают и получают

раствор с содержанием 0,1 мг N в 1 мл. Рабочий эталонный раствор с содержанием 0,01 мг N в 1 мл получают разбавлением запасного раствора в 10 раз.

4) Серия эталонных растворов. Берут 10 мерных колб вместимостью 50 мл и в каждую отмеряют бюреткой рабочий эталонный раствор в количествах 1, 2, 3, ... 10 мл для получения растворов с содержанием азота 0,01; 0,02; 0,03; ...; 0,1 мг/50 мл. Дальнейшая их подготовка совпадает с подготовкой аликвоты исследуемого раствора.

#### *Оборудование.*

1. Весы аналитические.
2. Конические колбы на 100 мл.
3. Холодильнички.
4. Мерные колбы на 250 мл.
5. Мерные колбы на 50 мл.
6. Дозатор на 2 мл.
7. Маркер по стеклу.
8. Фотоэлектроколориметр или спектрофотометр.

**Ход работы.** На аналитических весах в двух повторностях берут навески почвы от 0,2 до 0,5 г с диаметром частиц меньше 0,25 мм в конические колбы объемом 100 мл. Для большей точности их следует брать с помощью маленькой прямоугольной формы кальки, которая взвешивается сначала с небольшим количеством почвы (буквально на кончике ножа в случае ее темной окраски), а затем — после высыпания навески непосредственно на дно колбы (во избежание попадания почвенных частиц на стенки колбы). По разности двух полученных масс устанавливается масса почвенной навески.

Затем мерным цилиндром приливают 10 мл концентрированной кислоты  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Содержимое колбы перемешивают круговым движением, стараясь смочить всю почву, поскольку сухая почва при нагревании может пригореть, что приведет к частичной потере азота или локальному перегреву колбы.

Колбы устанавливают на нагревательную плиту, закрывают холодильниками, заполненными водой, и проводят сжигание органических веществ. *Кипение серной кислоты должно быть слабым!* Сильное кипение ведет к потере азота вследствие

разложения сульфата аммония. Сжигание считается законченным, когда минеральный остаток на дне колбы станет белым, а раствор над ним обесцветится. Продолжительность сжигания зависит от состава органических веществ. При длительном сжигании в кипящую смесь в качестве катализатора добавляется несколько капель  $\text{HClO}_4$ .

По окончании сжигания колбу снимают с огня и оставляют стоять для охлаждения до комнатной температуры, затем содержимое колбы осторожно разбавляют водой, приливая ее по стенке колбы, обмыв водой холодильник.

Содержимое колбы вместе с минеральным остатком переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл. При этом исходную колбу многократно промывают водой, присоединяя промывные воды к раствору в мерной колбе. Раствор в мерной колбе доводят до метки, закрывают пробкой, перемешивают и оставляют стоять на ночь до полного просветления.

Ввиду того что при разбавлении кислоты водой происходит ее нагревание и увеличение в объеме, необходимо еще раз довести объем раствора до метки после полного охлаждения колбы и дать осадку полностью осесть.

Следующая операция — взятие аликвотной части отстоявшегося над осадком раствора для колориметрического определения аммонийного азота по Несслеру. Не взмучивая осадок, берут пипеткой 2 мл прозрачного раствора в мерную колбу вместимостью 50 мл. Прибавляют 2 мл 50 %-го раствора сегнетовой соли для связывания мешающих ионов, главным образом  $\text{Ca}$  и  $\text{Mg}$ , добавляют воду примерно до половины колбы и тщательно перемешивают.

Нейтрализуют кислый раствор 10 %-м раствором  $\text{NaOH}$ . Это очень важная операция, поскольку реактив Несслера устойчив только в щелочных или нейтральных растворах! Ввиду того что раствор обладает свойством буферности, значение  $\text{pH}$ , равное 7–8, подводится путем последовательного прибавления щелочи по 1 мл, тщательного перемешивания и проверки  $\text{pH}$  универсальной лакмусовой бумажкой. Эта процедура может занять много времени, но тщательность ее проведения отражается на результатах определения.



Затем прибавляют 2 мл реактива Несслера, доводят водой объем раствора до метки, хорошо перемешивают и через 10–15 мин колориметрируют с помощью фотоэлектроколориметра или спектрофотометра при длине волны 400–425 нм. Проводят сравнение оптической плотности исследуемого раствора с оптическими плотностями эталонных растворов, содержащих известные концентрации определяемого вещества. Образование в растворе мути или его окрашивание в бурый цвет свидетельствуют о повышенном содержании в нем азота и необходимости его дополнительного разбавления.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен включать данные по содержанию азота в почве и расчеты его определения.

Навеска почвы пересчитывается на абсолютно сухую почву, для этого ее массу умножают на коэффициент:

$$\frac{100 - \% \text{ гигровлаги}}{100}.$$

Далее определяется количество почвы, соответствующее аликовоте. В нашем случае оно будет в 125 раз меньше абсолютно сухой навески (в общем виде обозначим ее  $X$ ). Если концентрацию азота в исследуемом растворе по калибровочному графику обозначить через  $K$ , то формула для расчета будет следующей:

$$N(\%) = \frac{K \cdot 100}{X \cdot 1000} = \frac{K}{X \cdot 10}.$$

Поскольку определение азота проводится в двух повторностях, окончательный результат будет соответствовать их среднеарифметическому значению.

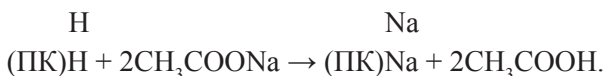
## Работа 7

### Определение гидролитической кислотности

**Цель работы** — установить величину гидролитической кислотности, которая дает представление об общем содержании в почве поглощенных ионов водорода. Эта величина служит показателем ненасыщенности почв основаниями.

Ионы  $\text{H}^+$  гидролитической кислотности отличаются малой подвижностью и поэтому не вызывают сильного подкисления почвенного раствора. На основании величины гидролитической кислотности рассчитывается доза извести для известкования кислых почв, широко распространенных в таежно-лесной зоне России.

**Методы работы.** Определение проводится по методу Каппена, суть которого заключается в полном вытеснении ионов водорода уксуснокислым натрием из почвы в раствор по уравнению



Затем образовавшуюся уксусную кислоту титруют щелочью и определяют гидролитическую кислотность, т. е. потенциальную кислотность почвы.

*Реактивы.*

1) 1,0 н раствор  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Раствор сохраняется плохо, поэтому его готовят непосредственно перед употреблением. Отвешивают на технических весах 136 г трехводного уксуснокислого натрия, растворяют примерно в 500 мл дистиллированной воды, фильтруют, если нужно, и доводят раствор до 1 л, затем перемешивают и проверяют pH. Для этого берут пипеткой 20 (25) мл раствора в фарфоровую чашку и прибавляют каплю фенолфталеина. Пригодность раствора определяют по его окрашиванию в слабо-розовый цвет, что соответствует pH 8,2. При интенсивно-красной окраске титруют 0,1 н раствором  $\text{HCl}$  до слабо-розовой окраски и добавляют в раствор необходимое количество кислоты, чтобы довести pH до 8,2.

2) 0,1 н раствор  $\text{NaOH}$ . Титр  $\text{NaOH}$  определяют по 0,1 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , приготовленному из фиксаля, по фенолфталеину.

3) Раствор фенолфталеина.

*Оборудование.*

1. Весы технические.
2. Маркер по стеклу.
3. Бюретка.
4. Конические колбы на 250 мл.
5. Мерная колба на 100 мл.

6. Воронки большие.

7. Фильтры.

**Ход работы.** На технических весах отвешивают 40 г почвы, пропущенной через сито с диаметром отверстий 1 мм. Навеску почвы помещают в колбу на 250 мл, приливают мерной колбой 100 мл 1 н раствора уксуснокислого натрия, закрывают пробкой и взбалтывают 1 ч.

Раствор фильтруют через сухой складчатый фильтр «белая лента», предварительно взболтав содержимое. Первые 10–20 мл фильтрата отбрасывают для удаления перешедших из раствора примесей. Далее, если фильтрат мутный, его перефильтровывают через тот же фильтр.

Берут мерной колбой 50 мл прозрачного фильтрата в коническую колбочку на 250 мл, прибавляют 2–3 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором NaOH до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

**Представление результатов.** Отчет должен содержать данные о величине гидролитической кислотности в  $\text{мг} \cdot \text{экв } \text{H}^+$  на 100 г воздушно-сухой почвы, рассчитанные по формуле

$$N_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} \cdot 5 \cdot 1,75,$$

где  $N_{\text{NaOH}}$  — нормальность гидроксида натрия;  $V_{\text{NaOH}}$  — объем NaOH (мл), пошедший на титрование; 5 — коэффициент пересчета навески на 100 г почвы; 1,75 — условный коэффициент, вводимый для учета  $\text{H}^+$ , не перешедших в раствор при однократной обработке почвы раствором  $\text{CH}_3\text{COONa}$ .

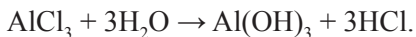
## Работа 8

### Определение подвижного алюминия

**Цель работы** — определить содержание в почве подвижного алюминия, который может дополнительно подкислять почвенный раствор.

Алюминий — важнейший элемент, определяющий особенности направления подзолообразовательного процесса в таежной и лесостепной зонах. Избыточное количество ионов  $\text{Al}^{3+}$  в почвенном растворе может дополнительно подкислять его, а также действовать токсически на многие растения и микроорганизмы, поэтому количественный учет подвижного  $\text{Al}^{3+}$  в кислых почвах необходим для выявления его участия в обменной кислотности и принятия мер к его обезвреживанию.

**Методы работы.** Определение проводится по методу Соколова, суть которого заключается в полном вытеснении ионов алюминия из почвы в раствор и в их дальнейшем титровании. Сначала алюминий вытесняется в раствор с помощью раствора  $\text{KCl}$ . Образовавшийся хлорид алюминия гидролизует, дополнительно подкисляя раствор:



Содержание подвижного алюминия устанавливают титриметрическим способом. Одна проба титруется щелочью по фенолфталеину для определения общей обменной кислотности, другая — после связывания алюминия фторидом натрия в комплексный ион по уравнению



По разности пошедших на титрование объемов щелочи устанавливается содержание подвижного алюминия.

*Реактивы.*

- 1) 1,0 н раствор  $\text{KCl}$ .
- 2) 0,02 н раствор  $\text{NaOH}$ . Титр  $\text{NaOH}$  определяют по 0,1 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , приготовленному из фиксаля, по фенолфталеину.
- 3) Раствор фенолфталеина.
- 4) 3,5 %-й раствор  $\text{NaF}$ . Для этого 3,5 г химически чистого (х. ч.) фторида натрия растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Раствор при взаимодействии с фенолфталеином должен давать слабо-розовую окраску. При отсутствии таковой раствор подщелачивают. Если окраска явно розовая, избыток щелочи нейтрализуют раствором  $\text{HCl}$ .

### *Оборудование.*

1. Весы технические.
2. Маркер по стеклу.
3. Конические колбы на 250 мл.
4. Мерная колба на 100 мл.
5. Ротатор.
6. Воронки большие.
7. Фильтры.
8. Пипетка Мора на 20 мл.
9. Бюретка.

**Ход работы.** На технических весах отвешивают 20 г почвы, пропущенной через сито с отверстиями диаметром 1 мм, и помещают в колбу на 250 мл. Приливают мерной колбочкой 100 мл 1 н раствора KCl, взбалтывают 1 ч на ротаторе (рис. 2.5) и фильтруют.



Рис. 2.5. Ротатор

Берут пипеткой две пробы прозрачного фильтрата по 20 мл каждая. Помещают их в колбы объемом по 250 мл и нагревают растворы до кипения для удаления  $\text{CO}_2$ .

В одну колбу прибавляют 2–3 капли фенолфталеина и оттитровывают горячий раствор 0,02 н раствором NaOH до слабо-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. Пошедшее на титрование этой пробы количество щелочи соответствует суммарному содержанию  $\text{H}^+$  и  $\text{Al}^{3+}$ .

В другую колбу прибавляют 3 мл 3,5 %-го раствора фторида натрия для связывания алюминия. Содержимое колбы хорошо перемешивают, дают осадку отстояться примерно 5 мин и титруют раствор той же щелочью, что и в первый раз. Этим титрованием узнают количество  $H^+$ -иона, непосредственно перешедшего в раствор.

По разности объемов (в мл) титрованного раствора NaOH, затраченных на первое и второе титрование, находят содержание водородных ионов, эквивалентных подвижному алюминию. Когда подвижного алюминия в почве нет, на первое и второе титрование расходуется одинаковое количество щелочи.

**Представление результатов.** Отчет должен содержать данные по содержанию подвижного алюминия (в мг · экв на 100 г почвы), рассчитанные по формуле

$$N_{NaOH} \cdot \Delta V \cdot 25 \cdot 9,$$

где  $N_{NaOH}$  — нормальность гидроксида натрия;  $\Delta V$  — разность NaOH (мл), пошедшей на первое и второе титрование; 25 — коэффициент пересчета навески на 100 г почвы; 9 — величина мг · экв  $Al^{3+}$ .

## Работа 9

### Определение емкости поглощения почв

**Цель работы** — установить поглотительную способность почв.

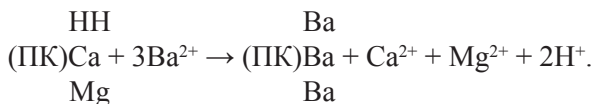
Почвенные коллоидные частицы минерального и органического происхождения обладают способностью поглощать ионы из почвенного раствора и представляют собой почвенный поглощающий комплекс (ППК). Эти ионы не выщелачиваются из почвы водой, являясь резервом для растений. В то же время поглощенные ионы являются обменными, поскольку присутствие в почве электролитов (в частности, растворимых солей) способствует их переходу из твердой фазы в раствор.

Среди обменно-поглощенных почвой катионов обычно преобладает кальций, на втором месте стоит магний, в незначительных

количествах — калий и аммоний. В кислых почвах в обменной форме присутствуют ионы водорода, а в засоленных — ионы натрия.

Высокие значения поглотительной способности почв свидетельствуют о благоприятных условиях для растущих на ней растений, особенно в случае преобладания среди поглощенных ионов кальция.

**Методы работы.** Определение емкости поглощения почв проводится гравиметрическим (весовым) методом Бобко — Аскинази в модификации Грабарова и Уваровой. Метод основан на вытеснении обменных катионов раствором хлорида бария по схеме



Затем поглощенный барий вытесняется раствором соляной кислоты, и осаждается серной кислотой. По полученному осадку после его прокаливании рассчитывают емкость поглощения исследуемой почвы.

#### *Реактивы.*

1) Раствор  $\text{BaCl}_2$  с pH 6,5. На технических весах отвешивают 78,37 г  $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , помещают навеску в фарфоровую чашку и нейтрализуют 70 мл 55 %-го раствора уксусной кислоты.

Полученный раствор уксуснокислого бария приливают к 10 л раствора, содержащего 61,1 г  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , перемешивают и контролируют pH полученного раствора по универсальной индикаторной бумаге.

2) 1 %-й раствор  $\text{HCl}$ .

3) 10 %-й раствор  $\text{HCl}$ .

4) 10 %-й раствор  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

5) 10 %-й раствор  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

#### *Оборудование.*

1. Весы технические.

2. Маркер по стеклу.

3. Чашки фарфоровые.

4. Конические колбы на 500 мл.

5. Фильтры.

6. Воронки большие.

7. Мерный цилиндр на 10 мл.
8. Тигли.
9. Муфельная печь.
10. Весы аналитические.

**Ход работы.** На технических весах отвешивают 5 г почвы, пропущенной через сито с отверстиями диаметром 1 мм, и помещают в фарфоровую чашку. Если изучаемая почва имеет щелочную реакцию среды, ее необходимо проверить на наличие карбонатов. Их присутствие определяется по характерному «вскипанию» при нанесении на почвенную навеску нескольких капель 10 %-го раствора  $\text{HCl}$ .

Если почва не содержит карбонатов, ее обрабатывают в чашке буферным раствором  $\text{BaCl}_2$  с рН 6,5, постепенно перенося на плотный беззольный фильтр и продолжая насыщение барием на воронке.

Если почва карбонатная, ее обрабатывают 1 %-м раствором  $\text{HCl}$  до полного разрушения карбонатов. Затем раствор декантируют (сливают без почвы) через плотный беззольный фильтр, затрачивая на разрушение карбонатов около 150–200 мл этой кислоты. Полное разрушение карбонатов устанавливают пробой на  $\text{Ca}^{2+}$  фильтрата, стекающего с воронки. Для этого к нескольким каплям фильтрующей жидкости, собранным в стаканчик, добавляют 10 %-й раствор  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Помутнение раствора свидетельствует о наличии в фильтрате ионов  $\text{Ca}$ . После полного разрушения карбонатов почву обрабатывают так, как описано для бескарбонатной почвы.

Насыщение хлоридом бария ведут до тех пор, пока окраска пробы фильтрата от индикатора бромтимолового синего не перестанет заметно отличаться от окраски того же индикатора в пробе исходного раствора  $\text{BaCl}_2$ . Обычно для полного насыщения барием 5 г почвы требуется пропустить через нее 300–400 мл раствора  $\text{BaCl}_2$ .

После насыщения отмывают дистиллированной водой избыток  $\text{BaCl}_2$ , механически задержанный почвой. Если при этом фильтрат окажется мутным, следует прекратить отмывку. Отмывание ведут до потери реакции на  $\text{Cl}^-$ , тщательно промывая водой стенки воронки. Для проверки наличия ионов  $\text{Cl}^-$  к капле фильтрата добавляют



каплю  $\text{AgNO}_3$ , помутнение раствора будет свидетельствовать об их присутствии.

Все промывные воды сливают, а поглощенный барий вытесняют подогретым до  $40^\circ\text{C}$  1 н раствором  $\text{HCl}$  до потери реакции на  $\text{Ba}^{2+}$  (проба 10 %-м раствором  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

Фильтрат собирают в колбу вместимостью 400–500 мл. Если количество фильтрата превышает 250 мл, его упаривают до указанного объема.

Избыток  $\text{HCl}$  нейтрализуют 10 %-м раствором аммиака до слабощелочной реакции (проверяют по универсальной индикаторной бумаге). Если выпадают полутонные окислы, их отфильтровывают и подкисляют раствор (до pH 6).

Затем проводят осаждение бария. Для этого раствор доводят до кипения и приливают при помешивании 10 мл 10 %-й  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , кипящей в стаканчике. Кипятят раствор 1–2 мин и дают осадку  $\text{BaSO}_4$  отстояться ночь на водяной бане. Далее осадок отфильтровывают через небольшой плотный беззольный фильтр, отмывают от избытка  $\text{H}_2\text{SO}_4$  горячей водой, подкисленной 10 %-м раствором  $\text{HCl}$ . Осадок высушивают, помещают вместе с фильтром в тигель.



Рис. 2.6. Муфельная печь

Затем тигли помещают в муфельную печь (рис. 2.6), где осадок озоляется и прокаливается при температуре не выше  $750^\circ\text{C}$ . Масса прокаленного осадка определяется по разности между массой тигля с осадком и массой пустого (предварительно взвешенного) тигля.

**Представление результатов.** Отчет должен содержать определенные в ходе работы значения емкости поглощения почвы в  $\text{мг} \cdot \text{экв}$  на 100 г сухой почвы, рассчитанные по формуле

$$\frac{m_{\text{ос}} \cdot 0,588 \cdot 100 \cdot k \cdot 14,56}{m_{\text{H}}},$$

где  $m_{\text{ос}}$  — масса прокаленного осадка;  $m_{\text{н}}$  — масса навески (г); 0,588 — коэффициент пересчета на  $\text{Ba}^{2+}$  из  $\text{BaSO}_4$ ; 100 — коэффициент пересчета на 100 г почвы;  $k$  — коэффициент пересчета на сухую навеску, равный  $100 - \% \text{ гигровлаги}/100$ ; 14,56 — коэффициент пересчета для выражения в  $\text{мг} \cdot \text{экв}$  ( $1000/\text{экв. вес. бария}$ ).

## Работа 10

### Определение подвижных форм железа

**Цель работы** — определить содержание аморфных форм оксида железа (III) в почве.

Железо наряду с алюминием — важнейший элемент, определяющий особенности направления почвообразования в некоторых зонах умеренного пояса.

**Методы работы.** Определение аморфных форм оксида железа (III) проводится по методу Тамма с помощью спектрофотометра.

**Реактивы.**

1) Раствор Тамма. 31,5 г щавелевой кислоты и 62,1 г щавелево-кислого аммония растворяют в 2,5 л воды.

2) 10 % раствор  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

3) 1 н раствор  $\text{KMnO}_4$ .

4) 0,05 н раствор  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ .

5) 1 н раствор  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Растворяют 54 г хлорида аммония в 1 л воды.

6) 2,5 %-й  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

7)  $\alpha$ -динитрофенол.

8) 25 %-й раствор сульфосалициловой кислоты. Готовят 100 мл водного 25 %-го раствора сульфосалициловой кислоты, к которому приливают 2,5 %-й раствор аммиака и с помощью индикаторной бумаги доводят значение pH до 2.

9) Исходный эталонный раствор  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (0,1 мг вещества в 1 мл раствора). Готовят 0,6039 г железоаммонийных квасцов  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$  и растворяют в 1 л воды. Для приготовления серии эталонных растворов используют мерные колбы объемом 100 мл, разбавления исходного раствора не требуется.

### *Оборудование.*

1. Весы аналитические.
2. Маркер по стеклу.
3. Конические колбы на 250 мл.
4. Мерная колба на 100 мл.
5. Ротатор.
6. Воронки большие.
7. Фильтры.
8. Пипетки Мора на 10 и 20 мл.
9. Мерные колбы на 200 мл.
10. Стаканчики на 100 мл.
11. Спектрофотометр.

**Ход работы.** Суть метода Тамма заключается в переводе оксидов железа из почвы в раствор с помощью щавелевокислого аммония при pH 3,2. В дальнейшем после разрушения щавелевой кислоты железо определяется колориметрическим методом с использованием сульфосалициловой кислоты, дающей при взаимодействии с железом малиновую окраску. Приготовив шкалу эталонных растворов и построив график, определяют содержание железа в почве.

Описанная методика применяется для бескарбонатных почв. В случае карбонатных почв их предварительно обрабатывают 2 %-м раствором уксусной кислоты.

На аналитических весах отвешивают 2 г почвы, пропущенной через сито с отверстиями диаметром 1 мм, и помещают в коническую колбу на 250–300 мл. Мерной колбочкой приливают 100 мл реактива Тамма, содержимое склянки взбалтывают на ротаторе 1 ч.

Суспензию фильтруют через сухой плотный фильтр, причем фильтрат приходится перефильтровывать до прозрачного состояния, поскольку сначала он идет мутный. *Фильтрат сохраняют!* Затем фильтр вместе с почвой (во избежание потери навески) переносят в ту же колбу, в которой проводилась первая экстракция, заливают новой порцией реактива Тамма в том же количестве и снова взбалтывают 1 ч.

Вторую вытяжку фильтруют через плотный фильтр и промывают почву на фильтре водой, подкисленной щавелевой кислотой, затем соединяют фильтраты от двух экстракций в мерную колбу

вместимостью 200 мл, доводят водой объем до метки и тщательно перемешивают. Пипеткой переносят 20 мл полученного раствора в стаканчик на 100 мл, приливают 10 мл 10 %-го раствора  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и нагревают до 80 °С.

Снимают стаканчик с плитки и в горячий раствор добавляют 1 н раствор  $\text{KMnO}_4$  до появления бурых хлопьев  $\text{MnO}(\text{OH})_2$ , затем в этот же раствор прибавляют 0,05 н раствор  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$  до полного растворения хлопьев осадка марганца. Снова нагревают раствор до 80 °С и прибавляют 0,05 н раствор  $\text{KMnO}_4$  до появления слабо-розовой окраски, исчезающей через 30–60 с.

После разрушения избытка щавелевой кислоты перманганатом содержащее стаканчика переносят в мерную колбу на 100 мл. Прибавляют 10 мл 1 н раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и 1–2 мл  $\alpha$ -динитрофенола. Если появится желтая окраска, ее уничтожают несколькими каплями 10 %-го раствора  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , а затем прибавляют 2,5 %-й аммиак до слабо-желтой окраски, что соответствует рН 2.

Затем в колбу приливают 5 мл сульфосалициловой кислоты (рН 2), раствор доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают и оставляют на 20 мин. Полученную малиново-розовую окраску раствора сравнивают с окраской эталонных растворов на фотоколориметре или спектрофотометре при длине волны 590 нм.

**Представление результатов.** Отчет должен содержать данные о количестве  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (в %), рассчитанном по формулам, приведенным ниже.

Сначала навеска почвы пересчитывается на абсолютно сухую почву, для этого ее массу умножают на коэффициент:

$$\frac{100 - \% \text{ гигровлаги}}{100}.$$

Далее определяется количество почвы, соответствующее аликвоте. В данном случае оно будет в 10 раз меньше абсолютно сухой навески (в общем виде обозначим ее  $X$ ). Если концентрацию  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  в исследуемом растворе по калибровочному графику обозначить через  $K$ , то формула для расчета будет следующей:

$$\text{Fe}_2\text{O}_3 (\%) = \frac{K \cdot 100}{X \cdot 1000} = \frac{K}{X \cdot 10}.$$

## Работа 11

### Анализ водной вытяжки

**Цель работы** — установить общее содержание легкорастворимых солей, их качественный и количественный состав. От типа и степени засоления зависят многие свойства почв и их плодородие.

#### **Методы работы.**

1. Определение сухого остатка проводится весовым методом путем высушивания части водной вытяжки при 105 °С.

2. Прокаленный остаток определяется весовым методом после прокаливания сухого остатка.

3. Щелочность от растворимых карбонатов ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) и общую щелочность ( $\text{HCO}_3^-$ ) устанавливают титриметрическим методом, титруя вытяжку раствором кислоты до точки эквивалентности, устанавливаемой по изменению окраски соответствующего индикатора. Иногда общую щелочность определяют методом потенциометрического титрования. Титруют до заданных значений pH или получают кривую потенциометрического титрования.

4. Определение общей кислотности, кислотности от органических кислот и кислотности от свободной  $\text{CO}_2$  проводят в кислых водных вытяжках, осуществляя титрование щелочью.

5. Определение хлорид-ионов производят argentометрическим методом Мора, основанным на взаимодействии их с ионами серебра в присутствии индикатора и образовании труднорастворимого хлорида серебра.

6. Определение кальция и магния ведут комплексонометрическим методом путем титрования раствором комплексона III (трилон Б).

7. Определение сульфат-ионов проводится гравиметрическим методом, основанным вначале на получении труднорастворимых сульфатов (главным образом сульфатов бария и свинца), затем их прокаливании и последующем взвешивании.

8. Определение  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  осуществляется пламенно-фотометрическим методом.

Принцип количественного определения калия и натрия на пламенном фотометре (рис. 2.7) основан на том, что каждый элемент



Рис. 2.7. Пламенный фотометр

имеет свой характерный спектр излучения, а интенсивность спектра зависит от концентрации элемента. Концентрацию веществ в испытуемом растворе сравнивают с концентрацией искомых веществ в эталонных растворах, а затем пересчитывают на 100 г почвы.

Реактивы, оборудование и содержание работ для каждого параметра состава водной вытяжки различны [Анализ водной вытяжки].

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать сводную таблицу (табл. 2.3) результатов анализа водной вытяжки. Содержание катионов и анионов представляется в процентах и  $\text{мг} \cdot \text{экв}/100 \text{ г}$  почвы.

Таблица 2.3

**Сводная таблица результатов анализа водной вытяжки**

№ образца	Горизонт, глубина, см	Плотный остаток, %	Прокаленный остаток, %	Анионы, % мг · экв				Сумма анионов, % мг · экв	Катионы, % мг · экв				Сумма катионов, % мг · экв	Сумма ионов и катионов, % мг · экв
				$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{HCO}_3^-$	$\text{Cl}^-$	$\text{SO}_4^{2-}$		$\text{Ca}^{+2}$	$\text{Mg}^{+2}$	$\text{K}^+$	$\text{Na}^+$		

## 2.2. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВ

### Работа 1

#### Определение плотности твердой фазы почвы

**Цель работы** — определить плотность твердой фазы почвы (удельную массу) как физического тела. Под плотностью твердой фазы почвы понимают отношение массы твердой части почвы (почвы без скважин) к единице объема. Она зависит от химического, минералогического состава и определяется средней плотностью веществ, составляющих данную почву, и их относительным содержанием. Чем богаче гумусом почва, тем меньше плотность твердой фазы. Знание плотности почвы необходимо для проведения гранулометрического анализа.

**Методы работы.** Плотность твердой фазы почвы определяют пикнометрическим методом, заключающимся в установлении объема воды, соответствующего объему взятой для анализа навески почвы. Пикнометр — мерный сосуд, позволяющий учитывать объем жидкости с большой точностью. *Он очень хрупкий, неустойчивый. Будьте внимательны и аккуратны при работе с ним!* С помощью пикнометра определяется объем воды, соответствующий объему почвы, взятой для анализа.

*Оборудование.*

1. Весы аналитические.
2. Маркер по стеклу.
3. Пикнометры на 100 мл.
4. Плита нагревательная.
5. Термометр комнатный.

**Ход работы.** На аналитических весах взвешивают сухой пикнометр вместе с пробкой, подписывают его шлиф и шлиф пробки. Наполняют пикнометр дистиллированной водой так, чтобы поверхность воды над горлышком была выпуклая, закрывают пробкой (без пузыря воздуха), обтирают насухо и взвешивают на аналитических весах. Обязательно записывают температуру воздуха, соответствующую температуре воды.

Берут навеску почвы с диаметром частиц меньше 1 мм, чтобы впоследствии в пикнометре она заняла примерно четверть его объема. Аккуратно пересыпают почву в пикнометр с помощью узкой трубочки из кальки. Записывают массу кальки после высыпания почвы и считают точную навеску почвы.

Обмывая горлышко с оставшимися в нем частицами почвы, заливают пикнометр водой до половины его объема, осторожно перемешивают почву с водой, не размазывая по стенкам пикнометра.

Пикнометр кипятят в течение 1 ч для удаления воздуха. *Он очень неустойчив! Кипение не должно быть бурным!*

Затем пикнометр охлаждают, доливают до верха водой, закрывают пробкой, обтирают снаружи и взвешивают.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать данные по значениям плотности твердой фазы почвы, рассчитанные по приведенным ниже формулам.

Сначала устанавливают объем почвы по формуле

$$(m_{\text{в}}) - (m_{\text{в} + \text{п}} - m_{\text{н}})) / \rho_{\text{в}},$$

где  $m_{\text{в}}$  — масса воды, помещающейся в пикнометре;  $m_{\text{в} + \text{п}}$  — масса содержимого пикнометра, заполненного водой с почвой;  $m_{\text{н}}$  — масса воздушно-сухой навески почвы;  $\rho_{\text{в}}$  — плотность воды, соответствующая определенной температуре, приведена в справочной таблице [Вадюнина, Корчагина].

Затем найденное значение объема почвы подставляется в формулу

$$\rho = m/v,$$

где  $\rho$  — плотность твердой фазы почвы;  $m$  — масса абсолютно сухой навески почвы,  $m_{\text{н}} \cdot 100 / (100 - \% \text{ гигровлаги})$ ;  $v$  — объем почвы.



## Работа 2

### Определение гранулометрического состава почв

**Цель работы** — определить гранулометрический состав почвы — соотношение в ней частиц разного размера. Гранулометрический состав почвы является важным показателем плодородия и генезиса почв

**Методы работы.** Определение гранулометрического состава проводится методом пипетки (по Качинскому). Метод Н. А. Качинского включает предварительную подготовку образца к анализу (декальцирование и растворение гумусовых веществ) и последующее определение гранулометрического состава по средней пробе в стоячей воде методом пипетки.

Отдельные фракции мелкозема определяются по скорости падения частиц в стоячей воде, зависящей от плотности твердой фазы почв, размеров частиц, температуры раствора и плотности воды. Скорость падения частиц описывается законом Стокса.

*Реактивы.*

- 1)  $\text{HCl}$  0,05 М.
- 2)  $\text{NH}_4\text{OH}$  10 %.
- 3)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  10 %.
- 4) Аммоний щавелевокислый 4 %.
- 5)  $\text{AgNO}_3$  5 %.
- 6)  $\text{NaOH}$  1 Н.

*Оборудование.*

1. Весы аналитические.
2. Маркер по стеклу.
3. Чашки фарфоровые.
4. Холодильнички стеклянные.
5. Конические колбы на 500 мл.
6. Фильтры.
7. Воронки большие.
8. Стаканчики на 100 мл.
9. Цилиндры мерные на 1000 мл.
10. Сито с диаметром отверстий 0,25 мм.

11. Бюксы алюминиевые.
12. Сушильный шкаф.
13. Термометр комнатный.

**Ход работы.** Предварительно взвесить на аналитических весах стеклянный стаканчик и бумажный фильтр, помещенный в него.

На аналитических весах отвесить в двух повторностях 10 (для суглинистой), 15 или 20 г (для супесчаной) почвы, растертой для анализа пестиком с резиновым наконечником и пропущенной через сито с диаметром отверстий 1 мм. Навески поместить в подписанные фарфоровые чашки.

Если почва некарбонатная, ее готовят к анализу описанным ниже способом.

Смачивают почву в чашке 0,05 М раствором  $\text{HCl}$ , постепенно перенося ее на фильтры (один из них предварительно взвешен) и промывая соляной кислотой до исчезновения реакции на ион  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Проверка на  $\text{Ca}^{2+}$ .** В небольшую порцию фильтрата по каплям добавляют 10 %-й раствор  $\text{NH}_4\text{OH}$  до появления запаха аммиака для его нейтрализации, затем подкисляют раствор несколькими каплями  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , добавляют 4 % щавелевокислый аммоний и нагревают жидкость до кипения. На присутствие ионов  $\text{Ca}$  в фильтрате укажет выпавший осадок  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ .

Далее почву отмывают от ионов  $\text{Cl}^-$  дистиллированной водой, проверяют полноту отмывки 5 %-м раствором  $\text{AgNO}_3$ . *В случае прохождения коллоидов через фильтр (появление муты в фильтрате) промывание прекращается даже при наличии реакции на  $\text{Cl}^-$ !*

В почве на воронке с заранее взвешенным фильтром определяют потерю от обработки  $\text{HCl}$ . Для этого ее переносят вместе с фильтром в заранее взвешенный стаканчик, высушивают при 105 °С и взвешивают.

Проба с невзвешенного фильтра поступает в анализ для определения гранулометрического состава. Ее смывают слабой струей дистиллированной воды из промывалки в фарфоровую чашку, сам фильтр очищают от приставших частиц стеклянной палочкой и отжимают до тех пор, пока из него не пойдет прозрачная вода, т. е. не будет иловатых частиц.

Суспензию из фарфоровой чашки переносят в коническую колбу вместимостью не менее 300 мл, при необходимости в нее доливают дистиллированную воду до объема 200 мл. Прибавляют 1 н раствор NaOH, исходя из емкости поглощения почвы (1 мл на 10 мг · экв). Колбы оставляют на 2 ч, при этом через каждые 15 мин их необходимо встряхивать вручную.

Затем суспензию кипятят, закрыв холодильником для расклеивания илистых частиц в течение 1 ч. Кипение не должно быть бурным (вспенивание не должно задевать холодильник).

После охлаждения до комнатной температуры прокипяченная навеска почвы пропускается через металлическое сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Сито устанавливают на воронку, а воронку — на цилиндр диаметром 6–8 см и высотой не менее 25 см. Переносить почву необходимо аккуратно, без разбрызгивания. Оставшуюся на сите почву промывают из промывалки и протирают пальцем через сито.

Оставшиеся на сите частицы почвы размером от 0,25 до 1 мм при помощи промывалки переносят в чашку, а затем — в предварительно взвешенный алюминиевый бюкс, из которого далее выпаривается вода, а оставшаяся фракция взвешивается. Суспензия в цилиндре доливается дистиллированной водой до 1 л, при этом высота столбика жидкости должна превышать 25 см.

Анализ проводится пипет-методом с учетом скоростей падения частиц в воде по формуле Стокса:

$$\vartheta = 2/9 \cdot g \cdot r^2 \cdot (\rho_1 - \rho)/\eta,$$

где  $g$  — ускорение свободного падения;  $r$  — радиус падающей частицы;  $\rho_1$  — плотность частицы;  $\rho$  — плотность воды;  $\eta$  — вязкость воды.

Приняты следующие глубины погружения пипетки для выделения фракций различной крупности:

- <0,050 мм — 25 см;
- <0,010 мм — 10 см;
- <0,005 мм — 10 см;
- <0,001 мм — 7 см.

Сроки взятия проб варьируют в зависимости от температуры дисперсии и плотности твердой фазы почвы и берутся из таблицы [Вадюнина, Корчагина].

В отдельный цилиндр с водой помещают термометр и фиксируют температуру трижды: после взбалтывания дисперсии, в середине интервала ее отстаивания и перед отбором пробы. Цилиндры защищают от света, пыли, перепадов температуры. По трем измерениям выбирают среднюю температуру воды, которую и принимают во внимание при выборе скорости падения частиц почвы в воде.

**Взятие пробы суспензии.** Пробы отбираются специальной пипеткой на 25 мл с метками 7, 10 и 25 см. По истечении указанного срока, необходимого для взятия частиц заданной крупности, пипетку вводят в цилиндр, стремясь попасть внутрь его поперечного сечения. Во избежание создания токов засасывание пробы производят медленно, примерно в течение 20 с.

Дисперсию в количестве 25 мл засасывают с определенной глубины в пипетку, сливают в заранее взвешенный алюминиевый бюкс, выпаривают воду и определяют вес искомой фракции.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать расчеты по приведенной ниже формуле, результаты в виде таблицы и название почвы по гранулометрическому составу.

В первую очередь вычисляется потеря от обработки HCl по формуле

$$\Delta m / m_{\text{аб.сух}} \cdot 100 \%,$$

где  $\Delta m$  — потеря в весе, г;  $m_{\text{аб.сух}}$  — навеска абсолютно сухой почвы.

В некарбонатных почвах потеря от обработки HCl небольшая и приходится в основном на несиликатные формы железа и алюминия. В этом случае ее прибавляют к илистой фракции. В карбонатных почвах потерю от обработки HCl указывают отдельно, включая ее в 100 % гранулометрического состава (табл. 2.4).

Гранулометрический состав почвы

Образец, глубина	Потеря от HCl	Фракции в %, размер в мм						
		1,0– 0,25	0,25– 0,05	0,05– 0,01	0,01– 0,005	0,005– 0,001	< 0,001	$\Sigma < 0,01$
		Сред- ний песок	Мел- кий песок	Круп- ная пыль	Сред- няя пыль	Мел- кая пыль	Ил	

## Работа 3

## Определение капиллярной влагоемкости почвы

**Цель работы** — определить капиллярную влагоемкость почвы.

Знание капиллярной влагоемкости почвы позволяет получить представление о формах влаги в почве, способах ее передвижения и доступности растениям.

**Методы работы.** Почву насыщают влагой в течение определенного времени и находят ее количество весовым методом. Почвенные капилляры насыщаются водой через бумажный фильтр. Почва взвешивается до насыщения водой и после, затем вычисляется процент капиллярной влагоемкости.

**Оборудование.**

1. Весы технические.
2. Трубка стеклянная.
3. Бумага фильтровальная.
4. Резинка круговая.
5. Штатив с лапкой.
6. Кружка керамическая на 1 л.

**Ход работы.** Вырезают квадраты из фильтровальной бумаги и марли размером 25 × 25 см. К стеклянной трубке с помощью круговой резинки прикрепляют фильтровальную бумагу и положенную на нее сверху марлю на случай разрыва бумаги.

Подставляют трубку под струю воды из крана так, чтобы фильтровальная бумага и марля полностью намокли, после чего их выжимают. Взвешивают на технических весах собранную мокрую конструкцию. В трубку сразу насыпают почву, чтобы высота столбика оказалась от 5 до 10 см, и взвешивают конструкцию с почвой.

Трубку закрепляют в штативе таким образом, чтобы марля и фильтровальная бумага были опущены в керамическую кружку. Кружку заполняют водой из-под крана, засекают ровно 15 мин. После указанного времени марлю отжимают и трубку взвешивают. По разности массы почвы до погружения в воду и после рассчитывается процент капиллярной влагоемкости.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать значения капиллярной влагоемкости (в %), рассчитанные по формуле

$$(m_{\text{в+п}} - m_{\text{н}}) \cdot 100/m_{\text{н}},$$

где  $m_{\text{в+п}}$  — масса почвы после насыщения водой;  $m_{\text{н}}$  — масса абсолютно сухой навески почвы.

## Работа 4

### Определение полной влагоемкости почвы

**Цель работы** — получить представление о полной влагоемкости почвы, т. е. об общей порозности почвы, на основе которой идет расчет поливных норм в засушливых районах.

**Методы работы.** Почву полностью насыщают влагой и определяют ее количество весовым методом.

*Оборудование.*

1. Весы технические.
2. Трубка стеклянная.
3. Бумага фильтровальная.
4. Резинка круговая.
5. Штатив с лапкой.
6. Кружка керамическая на 1 л.

**Содержание работы.** Почвенные капилляры насыщаются водой через бумажный фильтр. Почва взвешивается до насыщения водой и после, затем вычисляется процент полной влагоемкости.

Вырезают квадраты из фильтровальной бумаги и марли размером  $25 \times 25$  см. К стеклянной трубке с помощью круговой резинки прикрепляют фильтровальную бумагу и положенную на нее сверху марлю на случай разрыва бумаги. Подставляют трубку под струю воды из крана так, чтобы фильтровальная бумага и марля полностью намокли, после чего их выжимают. Взвешивают на технических весах собранную мокрую конструкцию. В трубку сразу насыпают почву, чтобы высота столбика оказалась от 5 до 10 см, и взвешивают конструкцию с почвой.

Трубку закрепляют в штативе таким образом, чтобы она была опущена в керамическую кружку. Кружку заполняют водой из-под крана так, чтобы она находилась на *верхнем уровне почвы в трубке*. После того как пленка воды появится на поверхности почвы, марлю отжимают и трубку взвешивают. По разности массы почвы до погружения в воду и после рассчитывается процент полной влагоемкости.

**Представление результатов.** Отчет по работе должен содержать значения полной влагоемкости (в %), рассчитанные по следующей формуле:

$$(m_{\text{в+п}} - m_{\text{н}}) \cdot 100/m_{\text{н}},$$

где  $m_{\text{в+п}}$  — масса почвы после насыщения водой;  $m_{\text{н}}$  — масса абсолютно сухой навески почвы.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Для чего измельчается почвенный образец?
2. Какова цель просеивания почвы?
3. Какая вода называется гигроскопической?
4. Какие свойства почвы влияют на величину гигроскопической влаги?
5. С какой целью определяют гигровлагу в почве?

6. На какие показатели почвы влияет реакция почвенного раствора?

7. Почему значения рН водной и солевой вытяжек отличаются друг от друга?

8. Чем обусловлен выбор реактива для получения вытяжки Кирсанова с легкорастворимыми фосфатами?

9. В чем суть метода определения легкорастворимых фосфатов в вытяжке Кирсанова?

10. Каков принцип определения органического углерода мокрым сжиганием по Тюрину?

11. В чем суть определения азота методом Несслера?

12. Как связана величина гидролитической кислотности с насыщением почвы основаниями?

13. Каков принцип определения подвижного алюминия по Соколову?

14. О чем свидетельствует наличие подвижного алюминия в почве?

15. Что исследуется при определении емкости поглощения почв?

16. Каков принцип определения емкости поглощения почв по Бобко — Аскинази?

17. Каков принцип определения подвижного железа по Тамму?

18. Для чего определяется наличие подвижного железа в почве?

19. Какие почвы считаются засоленными?

20. Назовите способы определения различных форм щелочности или кислотности водных вытяжек.

21. Каким методом определяется содержание хлорид-ионов в водной вытяжке?

22. Каков принцип определения кальция и магния в водной вытяжке?

23. Каким методом определяется содержание сульфат-ионов в водной вытяжке?

24. В чем суть метода определения натрия и калия в водных вытяжках пламенно-фотометрическим методом?

25. Какие ионы оказывают наиболее неблагоприятное воздействие на растения?

26. С какой целью определяется плотность твердой фазы почвы?



27. В чем суть метода определения гранулометрического состава почвы по Качинскому?

28. Какую информацию можно извлечь из знания гранулометрического состава почвы?

29. Для чего определяются капиллярная и полная влагоемкость почвы?

### 3. РАСТЕНИЯ КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ В МОНИТОРИНГЕ

#### 3.1. ОЦЕНКА ОСНОВНЫХ СРЕД ОБИТАНИЯ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

Антропогенное влияние проявляется в конечном итоге в форме различных нарушений в окружающей среде. Изменение химических характеристик воды, воздуха, почвы и, как следствие, нарушение процессов, протекающих в живых организмах, обнаруживаются при мониторинговых исследованиях. В зависимости от решаемых задач для контроля состояния окружающей среды могут быть выбраны различные показатели, характеризующие основные среды обитания живых организмов, а сами живые организмы могут служить биоиндикаторами, комплексно оценивающими качество различных сред. Экспериментальные исследования по изучению влияния отдельных загрязнителей на живые организмы необходимы для нормирования содержания загрязняющих веществ в окружающей среде и планирования охранных мероприятий.

#### Работа 1

##### **Закладка модельного эксперимента для изучения влияния тяжелых металлов на растения**

**Цель работы** — заложить модельный эксперимент, в ходе которого будет охарактеризовано влияние тяжелых металлов (ТМ) на ряд показателей у растений.

К ТМ относится группа химических элементов, имеющих плотность более 5 г/см<sup>3</sup>. Термин «тяжелые металлы» заимствован из технической литературы, где металлы классифицируются на тяжелые и легкие. Для биологической классификации более целесообразным

является разделение не по плотности, а по атомной массе. К ТМ причисляются все металлы с относительной атомной массой более 40.

Многие металлы из этой группы (медь, цинк, молибден, кобальт, марганец, железо) являются микроэлементами, т. е. в малых концентрациях улучшают рост и развитие живых организмов. В больших концентрациях им присуще негативное влияние на растения и животные. Но есть группа металлов, за которыми закрепился только негативный смысл: «тяжелые», в смысле «токсичные». Главные среди них — ртуть, кадмий и свинец. В ландшафтах, практически не затронутых хозяйственной деятельностью, содержание ТМ незначительное. Так, кларк кадмия в литосфере составляет 0,13 мг/кг, для ртути он равен 0,083 мг/кг, а для свинца — 16 мг/кг. В районах с развитой промышленностью они интенсивно рассеиваются в воздухе, воде и почве. В составе газообразных выделений, дымов, техногенной пыли металлы поступают в атмосферу, со сточными водами — в гидросферу. Накопление ТМ в водоемах негативно сказывается на процессах жизнедеятельности гидробионтов.

**Методы работы.** Закладка модельного эксперимента заключается в помещении опытных и контрольных растений в строго идентичные условия, отличающиеся только наличием различных ТМ (или различных концентраций ТМ). Таким образом, данный эксперимент является монофакторным и позволяет изучать влияние отдельно взятого металла (или различных его концентраций) на водные растения.

**Реактивы.** Раствор соли ТМ ( $\text{CuSO}_4$  или  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{MnSO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{CO})_2$ ) с концентрацией катиона 10 мг/л. Для его приготовления рассчитывается содержание металла в соли с учетом воды для обводненных солей и на аналитических весах (*правила взвешивания приведены в конце работы*), берется соответствующая навеска, содержащая необходимую массу катиона. Этот раствор является маточным, готовится в мерной колбе объемом 1 л, тщательно перемешивается и переливается на хранение в обычную колбу. Из него путем разбавления готовятся растворы меньших концентраций, на которых выращиваются растения, чаще всего это растворы с содержанием металла 0,10 и 0,25 мг/л.

### *Оборудование.*

1. Мерные колбы на 1, 2 л.
2. Мерный цилиндр на 1 л.
3. Весы аналитические.
4. Прозрачные сосуды для выращивания растений (эксикаторы объемом более 5 л).
5. Маркер по стеклу.

**Ход работы.** Закладка модельного эксперимента начинается с приготовления маточных растворов ТМ концентрацией 10 мг/л. В зависимости от задач исследования перечень металлов может меняться. Можно использовать умеренно опасные ТМ, включающие медь, никель, кобальт, хром, или высокоопасные ТМ, такие как кадмий, ртуть, свинец, цинк. Можно, например, сравнить влияние на растения ионов цинка и кобальта. Удобными объектами исследования являются гидрофиты, например, элодея канадская.

Готовят три стеклянных сосуда (эксикатора) объемом не менее 5 л (рис. 3.1) и подписывают на них специальным маркером по стеклу варианты опыта (контроль и разные концентрации ТМ). Из маточных растворов ТМ готовят растворы с концентрацией металлов 0,10 и 0,25 мг/л общим объемом по 4 л и заливают их в соответствующие сосуды. Контрольный вариант заполняют таким же объемом дистиллированной воды.



Рис. 3.1. Эксикатор

Для эксперимента используются здоровые побеги элодеи длиной около 20 см, их погружают (по 5 штук) в растворы в стеклянные сосуды.

Опытные и контрольные растения помещаются в строго идентичные условия (освещенность, температура), отличающиеся только наличием различных ТМ (или различных концентраций ТМ). Для поддержания одинаковых условий время от времени сосуды с растениями меняют местами. По мере

помутнения (примерно один раз в 10 дней) растворы заменяются свежими. Измерения различных показателей проводят через равные промежутки времени, например, через каждые 7 дней. Результаты, полученные для экспериментальных растений, сравниваются с контрольным вариантом. В дальнейшем в этих растениях определяется содержание пигментов и количество мертвых клеток (работы 2 и 3).

### Правила взвешивания

Для работы используются электронные технические (точность 0,01 г) и аналитические (точность 0,0001 г) весы. Правила работы на этих весах аналогичные.

Порядок работы на весах (рис. 3.2):

- 1) включить весы в сеть;
- 2) нажать на клавишу «Включение», на табло появится нулевое значение;
- 3) поместить в центр чашки весов тару, в которой будет производиться взвешивание, и дожидаться установления определенного значения массы;

#### Внимание!

*Взвешивание реактивов непосредственно на чашке весов недопустимо! При взвешивании жидкостей нельзя допускать их попадания на весы!*

- 4) нажать на клавишу «TARE» для того, чтобы прибор принял ее массу за нулевую, и дожидаться появления нулевого значения на табло;

- 5) поместить в тару взвешиваемое вещество и дожидаться установления определенного значения массы;

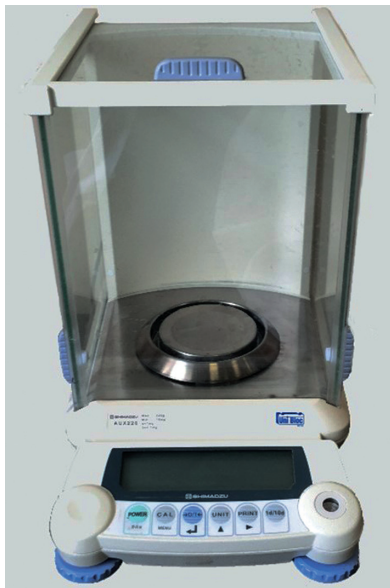


Рис. 3.2. Весы электронные аналитические

6) снять с весов всю нагрузку, выключить их нажатием клавиши и отключить от сети;

7) в случае попадания на весы сыпучих веществ очистить от них мягкой тканью или путем их выдувания;

8) накрыть весы чехлом от пыли и для защиты экрана от выгорания на солнце.

## Работа 2

### Влияние тяжелых металлов на пигментный комплекс растений

**Цель работы** — определить устойчивость хлорофиллов и каротиноидов к действию тяжелых металлов.

**Методы работы.** Определение содержания хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов в ацетоновой вытяжке спектрофотометрическим способом.

*Реактивы.*

- 1) 80 %-й ацетон.
- 2)  $\text{CaCO}_3$  или  $\text{MgCO}_3$ .
- 3) Кварцевый песок прокаленный.

*Оборудование.*

1. Фарфоровые ступки и пестики.
2. Мерные пробирки на 10 мл.
3. Маркер по стеклу.
4. Аналитические весы.
5. Центрифуга.
6. Спектрофотометр.
7. Штатив для пробирок.

**Содержание работы.** Тяжелые металлы могут действовать на стабильность хлорофилл-белковых комплексов. В связи с тем что хлорофилл и другие пигменты растений являются необходимой составной частью фотосинтезирующей системы, нарушение их структуры или уменьшение их количества ведет к значительному

снижению фотосинтетической способности растений и, как следствие, их роста.

Снижение содержания хлорофилла часто используют в качестве индикаторной реакции повреждения, происходящего под действием загрязняющих воздух веществ ( $\text{SO}_2$ , HF, тяжелые металлы). При действии, например,  $\text{SO}_2$  и HCl, подкисляющих клеточную среду, происходит деградация хлорофилла на феофитин и  $\text{Mg}^{2+}$ , при этом магний заменяется двумя атомами водорода, что приводит к изменению спектральных характеристик хлорофилла. Не исключено, что поллютанты могут действовать на стабильность хлорофилл-белковых комплексов.

Для изучения пигментного комплекса растений необходима экстракция пигментов, которые могут быть экстрагированы из свежего или фиксированного материала. При выборе экстрагирующих веществ необходимо учитывать растворимость пигментов и возможность их выделения данным растворителем из пигментно-липопротеидного комплекса, в виде которого пигменты находятся в пластидах. Для выделения пигментов используют 80 %-й ацетон или 90 %-й спирт. Экстракцию проводят по возможности быстро. Пигменты экстрагируют последовательно несколькими порциями чистого растворителя, центрифугируя гомогенат. При растирании навески листьев с растворителем необходимо добавлять небольшое количество  $\text{CaCO}_3$  или  $\text{MgCO}_3$  для предотвращения феофитинизации пигментов.

Вся подготовительная работа с пигментами ведется в затемненном помещении и на холоде.

**Ход работы.** Навески свежего растительного материала (30 мг) (в трех или более повторностях как для растений, выращиваемых на дистиллированной воде, так и для образцов из среды, содержащей металл) тщательно растирают в фарфоровой ступке с небольшим количеством 80 %-го ацетона (1 мл), чистого кварцевого песка и мела (или углекислого магния). Гомогенат переносят в предварительно пронумерованные центрифужные пробирки, обмывая сначала пестик 1 мл ацетона, а затем ступку еще 1 мл ацетона, и центрифугируют при 7 тыс. оборотах в течение 7 мин (*правила центрифугирования приведены в конце работы*).

Экстракт осторожно, не взмучивая осадок, сливают в мерную пробирку на 10 мл.

К осадку в центрифужной пробирке добавляют 2 мл 80 %-го ацетона, перемешивают раствор стеклянной палочкой, после чего обмывают ее 1 мл 80 %-го ацетона в эту же пробирку. Проводят повторное центрифугирование, после чего надосадочную жидкость аккуратно сливают в соответствующую мерную пробирку с экстрактом, полученным после первого центрифугирования, и доводят объем вытяжки чистым растворителем до 7 мл. Полученная ацетоновая вытяжка содержит сумму зеленых и желтых пигментов.

Концентрация пигментов определяется на спектрофотометре с использованием для расчета концентрации пигментов соответствующих формул (Вернера, Веттштейна и др.). *Устройство спектрофотометра и правила работы с ним приведены в конце работы 2.*

Для количественного определения пигментов часть полученного экстракта наливают в кюветы спектрофотометра.

**Внимание!** *Кюветы изготовлены из дорогого кварца!*

Контрольная кювета заполняется чистым растворителем (80 % ацетоном). Кюветы помещают в кюветную камеру спектрофотометра и определяют оптическую плотность ( $D$ ) при длинах волн, соответствующих максимумам определяемых пигментов.

Концентрация отдельных пигментов (хлорофиллов *a* и *b*) определяется двухволновым методом в общей смеси пигментов и сводится, таким образом, к следующему: с помощью спектрофотометра устанавливается величина оптической плотности ( $D$ ) суммарной вытяжки пигментов при двух длинах волн, соответствующих максимумам поглощения пигментов в данном растворителе (в ацетоне — 665 и 649 нм). Содержание суммы каротиноидов определяют в этой же вытяжке, измеряя величину оптической плотности ( $D$ ) при длине волны 440 нм.

**Представление результатов.** Показания спектрофотометра заносятся в табл. 3.1.



## Показания спектрофотометра

Вариант опыта	Оптическая плотность ( $D$ ) при разных длинах волн		
	$D_{440}$	$D_{649}$	$D_{665}$

Затем данные по повторностям усредняются и концентрации фотосинтетических пигментов рассчитываются по формуле Вернера:

$$C_a(\text{мг/л}) = 11,63 \cdot D_{665} - 2,39 \cdot D_{649};$$

$$C_b(\text{мг/л}) = 20,11 \cdot D_{649} - 5,18 \cdot D_{665};$$

$$C_a + C_b(\text{мг/л}) = 6,45 \cdot D_{665} + 17,72 \cdot D_{649}.$$

Содержание суммы каротиноидов рассчитывается по формуле Веттштейна:

$$C_{\text{кар}}(\text{мг/л}) = 4,695 \cdot D_{440} - 0,268 (C_a + C_b(\text{мг/л})).$$

Установив концентрацию пигмента в вытяжке, определяют его содержание в исследуемом материале с учетом объема вытяжки и массы пробы:

$$A = C \cdot V/P \cdot 1000,$$

где  $C$  — концентрация пигментов, мг/л;  $V$  — объем вытяжки пигментов, мл;  $A$  — содержание пигмента в растительном материале, мг/г свежего веса;  $P$  — навеска растительного материала, г.

Количество пигментов выражают в миллиграммах на единицу сырого или сухого веса, в % от сухого (сырого) веса, в миллиграммах на единицу площади листа (например, на  $\text{дм}^2$ ).

Обычно в нормальных зеленых листьях содержание хлорофилла колеблется от 0,5 до 3 мг на 1 г свежего веса при отношении  $a/b = 2,5-3$ , а содержание каротиноидов составляет 0,1–0,5 мг/г свежего веса.

Окончательные результаты заносятся в табл. 3.2.

Таблица 3.2

### Содержание пигментов

Вариант опыта	Содержание пигментов, мг/г сырого веса			
	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Сумма ( <i>a</i> + <i>b</i> )	Каротиноиды

Укажите дату начала и окончания выращивания культуры элодеи.

Делается вывод о влиянии разных ТМ (или различных их концентраций) на содержание пигментов в клетках растений.

### Правила центрифугирования

Центрифугирование используется для быстрого отделения осадка от надосадочной жидкости. Для этих целей используется центрифуга, например, центрифуга лабораторная медицинская ОПн-8 с частотой вращения до 8000 об/мин. Она обеспечивает центрифугирование жидких систем плотностью не более 2 г/см<sup>3</sup>, при работе со стеклянными пробирками — жидких систем плотностью не более 1,5 г/см<sup>3</sup>. Максимальный объем центрифугата составляет 180 мл. Частота вращения ротора центрифуги регулируется ступенчато от 1000 до 8000 об/мин. Центрифуга обеспечивает автоматическое отключение от сети 60-минутным механизмом отсчета времени через заданный интервал циклами, кратными 5 мин.

Порядок работы на центрифуге:

1) жидкости, приготовленные для центрифугирования, помещают в специальные пластмассовые предварительно подписанные центрифужные пробирки. Жидкость в пробирках не должна доходить до верхнего края пробирки примерно 1 см, иначе она выплеснется при центрифугировании. Перед загрузкой в гнезда центрифуги (рис. 3.3) пробирки попарно уравниваются на аптечных весах,

после чего уравновешенные пробирки устанавливаются строго напротив друг друга в соответствующие гнезда. Далее завинчивается металлическая крышка центрифуги, затем закрывается стеклянная крышка;

2) центрифуга включается в розетку;

3) переключателем на пульте управления устанавливается частота вращения от 1000 до 8000 об/мин;

4) ручкой часового механизма задается продолжительность работы центрифуги;

5) нажимаются две клавиши, расположенные на пульте управления параллельно друг другу.

Левая клавиша запускает либо останавливает работу часового механизма. Правая клавиша замыкает либо размыкает цепь питания центрифуги;

6) по истечении заданного срока центрифуга остановится автоматически;

### **Внимание!**

*Только дождавшись полной остановки центрифуги, можно отвинтить крышку и достать центрифужные пробирки.*

7) выключить клавиши пуска и остановки часового механизма и регулирования питания центрифуги;

8) выключить центрифугу из розетки.



Рис. 3.3. Центрифуга

## **Правила работы на спектрофотометре**

Поскольку спектрофотометр является ламповым прибором, ему необходимо предварительное прогревание.

Прибор оснащен двумя лампами — вольфрамовой лампой накаливания для работы в области видимого света ( $\lambda = 340\text{--}1100\text{ нм}$ ) и дейтериевой лампой для измерений в ультрафиолетовой области

( $\lambda = 190\text{--}350$  нм). Стабильная работа спектрофотометра обеспечивается через 30 мин после его включения, которое надо проводить в следующем порядке:

- 1) включить прибор в сеть;
- 2) проверить, находится ли рукоятка в положении «Закрыто», что означает, что фотоэлемент закрыт;
- 3) нажать клавишу «Пуск», после чего на табло должна высветиться точка (запятая).

### ***Определение оптической плотности.***

1. Исследуемые и контрольный (необходимый для учета оптической плотности реактивов) образцы заливаются в хорошо промытые кварцевые кюветы. Держать кюветы следует только за матовые грани. Рабочие грани перед измерением должны быть тщательно протерты фильтровальной бумагой. Загрязнение или капли раствора на рабочих частях граней приводят к неточности измерений.

2. Кюветы устанавливаются в держателе, а он помещается на каретку в кюветном отделении.

3. Кювета с контрольным образцом помещается на пути потока излучения.

4. Вращением барабана устанавливается необходимое значение длины волны.

5. Нажать клавишу «Ш(0)», при этом на табло высветится числовое значение выходного напряжения в вольтах, которое должно быть в диапазоне от 0,05 до 1. Если значение не попадает в заданный интервал, необходимо очень аккуратно плавным поворотом рукоятки «Нуль» подвести нужное значение, проверяя его нажатием клавиши «Ш(0)». При нажатии клавиши «Ш(0)» определяется выходное напряжение при неосвещенном фотоэлементе.

6. Установить рукоятку в положение «Открыто». При этом очень важно не задевать рукоятку настройки нуля, которая расположена очень близко к рукоятке «Открыто»!

7. Для введения сигнала сравнения необходимо нажать клавишу «К(1)». Числовое значение выходного значения в вольтах, высветившееся на табло, должно оказаться в диапазоне от 0,5 до 5,0.

Если появляется другое значение, следует изменить ширину щели переключением рукоятки «Щель» и повторным нажатием клавиши «К(1)». При нажатии клавиши «К(1)» определяется выходное напряжение при световом потоке, прошедшем через контрольный образец.

8. Нажать клавишу «Д(5)», при этом на табло должно появиться показание  $0,000 \pm 0,001$ , а слева — индекс «5». Если показание имеет другое значение, необходимо еще раз нажать клавишу «К(1)», а затем снова клавишу «Д(5)».

9. Установить рукоятку в положение «Закрото». Положение «Открыто» устанавливается только перед нажатием клавиш «К(1)» и «Д(5)», все остальное время рукоятка должна находиться в положении «Закрото», чтобы не расходовать фотоэлемент.

10. Установить на пути потока излучения измеряемый образец, переместив каретку рукояткой.

11. Установить рукоятку в положение «Открыто».

12. Нажать клавишу «Д(5)». При этом происходит вычисление и высвечивание на фотометрическом табло значения оптической плотности.

### **Внимание!**

*При проведении измерений все клавиши следует нажимать не чаще одного раза в 2 с!*

13. Установить рукоятку в положение «Закрото» и снять показания с фотометрического табло.

14. Аналогичным образом померить остальные образцы, каждый раз после установки новой партии кювет настраивая прибор и вводя сигнал сравнения.

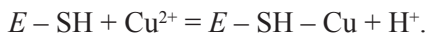
Для выключения прибора выключаются кнопка «Сеть» и вилка из розетки.

## Работа 3

### Определение количества поврежденных клеток в листе элодеи, выращенной в загрязненной тяжелыми металлами среде

**Цель работы** — установить влияние повышенных концентраций тяжелых металлов на количество поврежденных клеток в листе растения.

Ионы металлов необратимо связываются с SH-группами остатков цистеина, нарушая каталитическую активность ферментов. Они ингибируют их с образованием меркантидов:



Таким способом возникает неконкурентное ингибирование, в результате чего клетка погибает.

**Методы работы.** Влияние содержания в средах повышенных концентраций тяжелых металлов устанавливается на основании подсчета окрашенных мертвых клеток в растительных тканях с использованием микроскопа.

**Реактивы.** Краситель сафранин (спиртовой раствор); 250 мг сафранина растворяют в 100 мл 10 % спирта.

**Оборудование.**

1. Предметные и покровные стекла.
2. Маркер по стеклу.
3. Пинцет.
4. Пипетка.
5. Чашки Петри.
6. Стекланный стакан объемом не менее 500 мл.
7. Световой микроскоп.

**Ход работы.** Подпишите маркерами три предметных стекла, обозначив на них вариант модельного эксперимента (контроль или названия и концентрации тяжелых металлов).

Извлеките по одному растению элодеи из каждого варианта (контроль и два варианта с тяжелыми металлами). Аккуратно,

не повреждая их, отделите *от средней части каждого растения по пять листьев*, разместите листья каждого экземпляра на подготовленные предметные стекла, поместите их в чашку Петри для аккуратного окрашивания.

На каждый лист пипеткой капните краситель сафранин, обладающий способностью хорошо окрашивать стенки клеток. Будьте внимательны, сафранин окрашивает лабораторную мебель, одежду и т. д.

Заполните большой стакан дистиллированной водой. Выдержав листья не менее 5 мин в красителе, каждый лист прополощите в большом стакане с дистиллированной водой, держа за край пинцетом, и разложите группами по 5 шт. на заранее подписанные предметные стекла, накройте их покровными стеклами.

Для определения количества поврежденных клеток необходимо подсчитать общее количество клеток в поле зрения под микроскопом и отдельно — количество поврежденных (полностью окрашенных в малиновый цвет клеток) в поле зрения. Результаты занести в заранее подготовленную таблицу в одну строчку через запятую, заполняя колонки 2 и 4 таблицы, приведенной ниже (табл. 3.3).

Поля зрения следует выбирать в средней части листа, по бокам от центральной жилки, не захватывая ее. Увеличение микроскопа можно использовать любое, но удобнее вести подсчеты при максимальном увеличении светового микроскопа. Все образцы должны просматриваться на одинаковом увеличении!

В каждом листе элодеи из контрольного варианта подсчитайте *общее количество клеток и количество поврежденных клеток в трех полях зрения*. Таким образом, у вас получится по 15 значений в колонках 2 и 4.

Для двух остальных вариантов подсчитайте *только количество мертвых клеток в каждом из трех полей зрения*, данных о количестве клеток в поле зрения будет достаточно из одного, контрольного варианта.

По 15 значениям числа клеток в поле зрения рассчитайте среднее значение, впишите его для остальных двух вариантов опыта. Для каждого варианта установите среднее число мертвых клеток в поле зрения. Найдите в каждом варианте количество поврежденных клеток в процентном отношении к общему числу клеток.

**Представление результатов.** Результаты занести в таблицу 3.3.

*Таблица 3.3*

**Результаты исследований**

№ п/п	Вариант опыта	Число клеток в поле зрения	Среднее число клеток в поле зрения	Число мертвых клеток	Среднее число мертвых клеток	Доля поврежденных клеток, %
1	Контроль					
2						
3						
4						

Далее по полученным результатам строится диаграмма (рис. 3.4). Делается вывод о влиянии разных тяжелых металлов (или различных их концентраций) на клетки растений.

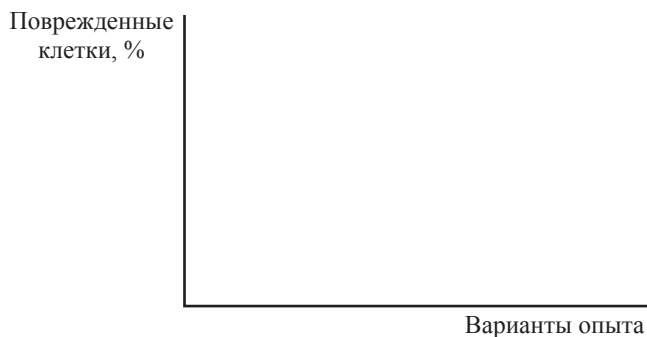


Рис. 3.4. Количество поврежденных клеток относительно контроля, %



## Работа 4

### Биотестирование проб воды с использованием водорослей

**Цель работы** — оценить токсичность образцов воды методом биотестирования с использованием водорослей.

Тест-объектом служит культура водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer. Систематическое положение хлореллы как тест-объекта:

Отдел	Chlorophyta
Класс	Euchlorophyceae
Порядок	Chlorococcales
Семейство	Chlorellaceae
Подсемейство	Chlorelloideae
Род	Chlorella Beijer
Вид	Chlorella vulgaris Beijer

Хлорелла относится к одноклеточным водорослям. Клетки шаровидные, с тонкой оболочкой, без слизи. Хроматофор чашевидный, с пиреноидом. Размножение автоспорами, образующимися по 4–8, реже по 16 и освобождающимися через разрыв материнской оболочки. Диаметр клеток 4,2–10,5 мкм. Широко распространенный вид.

**Методы работы.** Токсичность среды устанавливается по интенсивности размножения водорослей при воздействии токсических веществ, содержащихся в тестируемых образцах, по сравнению с контролем, с помощью измерителя плотности суспензии.

#### *Реактивы.*

1) Калий двуххромовокислый  $K_2Cr_2O_7$  — 2 мг/л. Из него путем разбавления готовятся растворы  $K_2Cr_2O_7$  с концентрациями 1,5, 1,0 и 0,5 мг/л, общим объемом по 200 мл.

2) Отстоянная в течение трех суток водопроводная вода, служащая контролем.

#### *Оборудование.*

1. Культиватор водорослей KB-05.
2. Многокуветный культиватор водорослей KBM-05.
3. Измеритель плотности суспензии ИПС-03.
4. Весы аналитические.

5. Флаконы пенициллиновые.
6. Маркер по стеклу.
7. Дозатор на 500 мкл.
8. Цилиндр (или мерные пробирки) на 10 мл.
9. Колба мерная на 1 л.
10. Колбы мерные на 200 мл.

**Ход работы.** Для проведения процедуры биотестирования исследуемые растворы в трех повторностях по 10 мл помещают в заранее подписанные пенициллиновые флаконы в соответствии с табл. 3.4.

Еще в три флакона заливается по 10 мл контроля, которым служит водопроводная вода, отстоянная в течение трех суток, или «биологизированная вода», взятая из аквариума.

Таблица 3.4

**Порядок заполнения флаконов для проведения биотестирования**

№ фла- кона	Вариант	Название раствора	Объем раствора, мл	Объем культуры хлорел- лы, мл
1, 2, 3	Контроль	Биологизированная вода	10	0,5
4, 5, 6	Проба 1	Вытяжка 1	10	0,5
7, 8, 9	Проба 2	Вытяжка 2	10	0,5
10, 11, 12	Проба 3	Вытяжка 3	10	0,5
13, 14, 15	Cr 0,5 мг/л	Раствор $K_2Cr_2O_7$ 0,5 мг/л	10	0,5
16, 17, 18	Cr 1,0 мг/л	Раствор $K_2Cr_2O_7$ 1,0 мг/л	10	0,5
19, 20, 21	Cr 1,5 мг/л	Раствор $K_2Cr_2O_7$ 1,5 мг/л	10	0,5
22, 23, 24	Cr 2,0 мг/л	Раствор $K_2Cr_2O_7$ 2,0 мг/л	10	0,5

Общим правилом для всех методов биотестирования является оценка надежности тест-культур. Известно, что живые организмы по разным причинам со временем могут менять свою чувствительность. В связи с этим обязательной процедурой в лаборатории

является контроль чувствительности тест-культуры к модельному токсиканту. В качестве модельного токсиканта принято использовать растворы солей тяжелых металлов. Наиболее распространенным является калий двухромовоокислый. Перед тем как поставить эксперимент, следует убедиться в том, что тест-культура обладает достаточной чувствительностью. Для этого обязательно проводят *оценку прироста численности популяции* клеток тест-культуры в среде, содержащей бихромат калия. Испытуемые концентрации бихромата калия во флаконах с водорослями должны быть следующие: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мг/л, их тоже заливают в трех повторностях в пенициллиновые флаконы.

Затем во все 24 флакона с исследуемыми вытяжками, контролем и растворами калия хромовоокислого добавляют дозатором по 0,5 мл заранее выращенной культуры хлореллы.

Затем флаконы закрывают пробками с небольшими отверстиями для поступления воздуха, перемешивают и измеряют оптическую плотность на измерителе плотности суспензии (ИПС-03), который работает на длине волны 560 нм.

### **Проведение измерений на измерителе плотности суспензий ИПС-03**

1. Для входа в режим измерений нажмите последовательно кнопки «Сброс» и «Пуск». На экране появится надпись «Режим “Тест”».

2. Установите контрольный образец (флакон пенициллиновый (далее — флакон) по ГОСТ 10782-85 с дистиллированной водой по ГОСТ 6709 объемом не менее 5 мл) в кювете отделения и нажмите кнопку «Контроль». После нескольких секунд вращения флакона на экране появится надпись:

$$N = \text{xxxx} \quad K = \text{xxxx}$$

<Опыт>,

где N — номер замера (по умолчанию 0); K — значение интенсивности света ( $I_0$ ), прошедшего через контрольный образец в относительных единицах. Его значение должно находиться в пределах 800–900 ед.

3. Замените «контрольный» флакон на «опытный», содержащий суспензию водоросли. Нажмите кнопку «Опыт». На экране появится надпись:

$$N = \text{xxxx} \quad K = \text{xxxx} \\ \text{<Опыт>},$$

где N — номер замера, а K — оптическая плотность образца.

4. Вставьте следующий флакон с суспензией и выполните замер оптической плотности в соответствии с указаниями п. 3. Эту операцию, каждый раз сменяя рабочие флаконы, можно проводить многократно в течение 3–5 мин. При более длительных замерах их следует чередовать повторными измерениями светопропускания контрольного флакона (п. 1, 2). При этом для сохранения снятых ранее данных перед каждым замером контрольного флакона их следует записать в рабочую тетрадь.

После измерения плотности пенициллиновые флаконы помещают в многокуветный культиватор водорослей KBM-05, в котором создается оптимальный режим для культивирования хлореллы.

Через 96 ч биотестирование заканчивают. В каждом флаконе повторно измеряют оптическую плотность на измерителе плотности суспензии (ИПС-03).

**Внимание!** *Следует помнить, что каждый раз перед измерением плотности флакон необходимо тщательно встряхнуть не менее 7 раз, закрывая отверстие пробки, поскольку культура хлореллы оседает на дно!*

**Представление результатов.** Результаты заносятся в табл. 3.5.

Таблица 3.5

## Результаты наблюдений

Название образца, повторность	Исходная плотность суспензии	Конечная плотность суспензии	Разница между конечной и исходной плотностью	Среднее значение разницы	Прирост плотности по сравнению с усредненным контролем, %
Контроль 1					
Контроль 2					
Контроль 3					
Образец 1–1					
Образец 1–2					
Образец 1–3					
Образец 2–1					
Образец 2–2					
Образец 2–3					
Образец 3–1					
Образец 3–2					
Образец 3–3					
0,5 мг/л Cr–1					
0,5 мг/л Cr–2					
0,5 мг/л Cr–3					
1,0 мг/л Cr–1					
1,0 мг/л Cr–2					
1,0 мг/л Cr–3					
1,5 мг/л Cr–1					
1,5 мг/л Cr–2					
1,5 мг/л Cr–3					
2,0 мг/л Cr–1					
2,0 мг/л Cr–2					
2,0 мг/л Cr–3					

Делается вывод о чувствительности хлореллы и токсичности исследуемых проб.

Культура водоросли будет считаться пригодной для биотестирования, если в диапазоне концентраций  $K_2Cr_2O_7$  0,5–2,0 мг/л проявится полулетальный эффект для популяции клеток водоросли. Критерием токсичности является достоверное снижение коэффициента прироста численности клеток в тестируемом образце по сравнению с контролем на 20 % и более.

Если продолжительность занятия позволяет, проводится также определение количества клеток хлореллы в суспензии с помощью камеры Горяева, которое описано ниже.

### **Дополнительное определение количества клеток хлореллы в суспензии с помощью камеры Горяева**

Выберите три образца в пенициллиновых пузырьках с максимальным значением измеренной после культивирования хлореллы оптической плотности, минимальным ее значением и средним между ними значением. Определите в них количество клеток хлореллы с помощью камеры Горяева, запишите три полученных значения для соответствующих оптических плотностей в лабораторный журнал.

В счетной камере Горяева имеются две сетки, нанесенные на поверхность узкой стеклянной пластинки, разделенной посредине на две части желобком, вытравленным в стекле пластинки. Сетки расположены по обе стороны желобка. По обеим сторонам этих пластинок имеются узкие стеклянные полоски, отделенные от счетных поверхностей желобками. Толщина боковых пластинок больше толщины средней полоски на 0,1 мм, при наложении на них покровного стекла над счетной поверхностью образуется пространство высотой в 0,1 мм.

Сетка Горяева состоит из 225 квадратов, расположенных в 15 рядах по 15 клеток в каждом ряду. Квадраты образованы пересечением 16 продольных и 16 поперечных штриховых линий. Добавочными поперечными и продольными штриховыми линиями каждый третий квадрат сетки разделен на 16 маленьких квадратов. Всего на сетке

имеется 25 таких квадратов по 16 квадратиков в каждом. Сторона маленького квадрата равняется  $1/20$  мм, площадь квадрата —  $1/20 \cdot 1/20 = 1/400$  мм<sup>2</sup>.

**Подсчет клеток хлореллы.** Рассматривают сетку счетной камеры под микроскопом при малом и большом увеличении. Камеру покрывают покровным стеклом. Притирают покровное стекло так, чтобы между ним и боковыми пластинками камеры появились цветные кольца.

Затем исследуемую суспензию во флаконе тщательно встряхивают, берут пипеткой каплю и наносят на край средней пластинки счетной камеры. В силу капиллярности капля тотчас же всасывается вовнутрь камеры.

Далее находят в поле зрения левый верхний квадрат, разделенный на мелкие квадратики, и подсчитывают число эритроцитов в каждом из 16 входящих в него маленьких квадратиков, передвигая сетку сначала слева направо, пока не будут посчитаны эритроциты четырех верхних квадратиков. Передвигая сетку справа налево, переходят к подсчету клеток в четырех квадратах следующего ряда, затем подсчитывают в четырех квадратах третьего и, наконец, четвертого ряда. Чтобы избежать повторного подсчета одних и тех же клеток, в каждом квадрате подсчитывают все клетки хлореллы, лежащие внутри квадрата и расположенные на *верхней и левой его границе*, и не считают те, которые расположены на *правой и нижней* пограничных линиях. Сосчитав число клеток в левом верхнем квадрате (16 маленьких квадратиков), передвигают сетку по диагонали и просчитывают следующий квадрат, состоящий из 16 квадратиков, затем, передвигая сетку дальше по диагонали, подсчитывают во всех пяти квадратах, лежащих по диагонали. Числа клеток в больших квадратах не должны сильно отклоняться друг от друга. Значительные отклонения в числе клеток в отдельных квадратах указывают на неравномерность распределения их по сетке. Это значит, что культура хлореллы была плохо перемешана. В этом случае нужно снова перемешать содержимое пузырька (встряхивая его в течение минуты) и взять для подсчета новую каплю.

Вычисляют общее количество клеток хлореллы в 1 мм<sup>3</sup> жидкости.

Поскольку объем маленького квадратика составляет  $0,1 \cdot 1/400 \text{ мм}^3$ , то объем 80 просмотренных квадратиков будет составлять  $80 \cdot 0,1 / 400 \text{ мм}^3 = 0,02 \text{ мм}^3$ . Следовательно, для пересчета клеток хлореллы в  $1 \text{ мм}^3$  нужно подсчитанное количество клеток в 80 квадратах умножить на 50.

## Работа 5

### Биотестирование образцов природных сред с использованием редиса

**Цель работы** — оценить токсичность образцов воды методом биотестирования с использованием семян редиса.

Тест-объектом служат семена редиса, характеризующиеся высокой отзывчивостью на токсические вещества снижением длины корней проростков. Этот метод определения загрязнения по задержке роста корня широко используется в экологическом контроле.

**Методы работы.** Токсичность среды устанавливается по снижению длины корней проростков редиса в исследуемых пробах (растворах или вытяжках) по сравнению с контролем.

**Реактивы.** Отстоянная в течение трех суток водопроводная вода, служащая контролем.

**Оборудование.**

1. Климакамера.
2. Стаканы химические.
3. Чашки Петри (12 шт.).
4. Маркер по стеклу.
5. Фильтровальная бумага.
6. Мерный цилиндр.

**Ход работы.**

1. В четыре стеклянных стаканчика объемом 50–100 мл помещают по 100 тщательно отобранных семян, подписывают их (три исследуемые пробы и 1 контрольная).

2. Мерным цилиндром отмеряют 10 мл анализируемых растворов и заливают семена редиса в стаканчике. В один стаканчик



с семенами приливают 10 мл контроля (биологизированная или отстоянная в течение трех суток водопроводная вода).

3. Через сутки (20–24 ч) семена раскладываются из стаканчиков в чашки Петри.

Чашки Петри должны быть подготовлены следующим образом:

1) на боку чашки (не крышки, чтобы надпись не мешала прохождению света!) маркером подписывается ее номер (к-1, к-2, к-3, 1-1, 1-2, 1-3, 2-1 и т. д.);

2) на дно каждой чашки укладывается вырезанный из фильтровальной бумаги круг, соответствующий размеру дна чашки.

Семена из одного стаканчика по 30 шт. раскладывают в три чашки Петри для получения трехкратной повторности, необходимой для оценки достоверности результатов. Семена, которые оказались поврежденными, не используются, для этого при замачивании закладывается дополнительное их количество.

- Фильтры смачиваются 10 мл отстоянной в течение трех суток водопроводной водой. Семена равномерно распределяются по поверхности фильтра.

- Чашки Петри с семенами помещают в климакамеру *на одну полку в один слой* при максимальной освещенности, температуре 25 °С и влажности 50 % на неделю (до следующего занятия).

- Через семь суток измеряют линейкой (в мм) общую длину главного корня у каждого проростка на каждой чашке Петри.

**Представление результатов.** Результаты заносятся в таблицу (табл. 3.6), по ним рассчитывают средние значения длины корня для каждой повторности одного варианта и всего варианта (по трем повторностям). Непроросшие семена не учитываются, т. е. сумма показателей делится на число проросших семян.

Средние показатели длины главного корня в контроле принимаются за 100 %, аналогичный показатель для других вариантов рассчитывается относительно контроля. Строится диаграмма, показывающая среднюю длину главного корня (в %) во всех вариантах опыта относительно контроля (рис. 3.5).

Делается вывод о токсичности каждого исследуемого образца. Проба токсична в случае уменьшения длины корня в исследуемой пробе на 20 % по сравнению с контролем.

Таблица 3.6

## Результаты исследований

Вариант	Повтор- ность	Длина каж- дого главно- го корня, мм	Средняя длина главного корня для отдельной чашки Петри, мм	Средняя длина главного корня в пробе (по трем повторностям), мм
Контроль	1			
	2			
	3			
Проба 1	1			
	2			
	3			
Проба 2	1			
	2			
	3			
Проба 3	1			
	2			
	3			

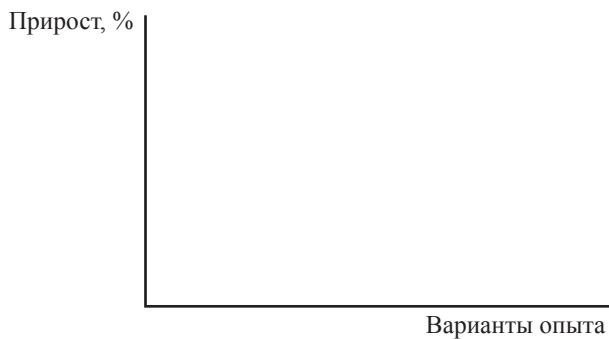


Рис. 3.5. Длина главного корня опытных вариантов относительно контроля, %

## Работа 6

### Оценка уровня загрязнения природной воды по содержанию в ней растворенного кислорода

**Цель работы** — оценить уровень загрязненности воды по содержанию в ней кислорода.

**Методы работы.** Состояние воды в водоеме оценивается по содержанию в ней кислорода титриметрическим методом Винклера.

*Реактивы.*

1) Раствор хлористого марганца. Навеску  $42,5 \text{ г } \text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (или  $48 \text{ г } \text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) доводят в мерной колбе дистиллированной водой до объема 100 мл.

2) Раствор йодистого калия щелочной. Навески 70 г KOH (или 50 г NaOH) и 15 г KJ доводят в мерной колбе дистиллированной водой до объема 100 мл.

3) Соляная кислота, разбавленная дистиллированной водой в отношении 1 : 1 по объему. При разбавлении концентрированных кислот сначала в коническую колбу отмеряют нужный объем воды, затем в него мерным цилиндром добавляют необходимый объем кислоты, после чего раствор закрывают пробкой и тщательно перемешивают.

4) 0,2 н раствор натрия серноватистокислого (тиосульфата), готовят в мерной колбе на 500 мл из фиксанала  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

5) 0,02 н раствор тиосульфата, готовят разбавлением 0,2 н раствора тиосульфата в мерной колбе.

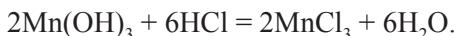
*Оборудование.*

1. Электронные весы.
2. Бюретка.
3. Дозаторы.
4. Мерный цилиндр на 100 мл.
5. Мерные колбы на 100, 500 мл.
6. Узкогорлые колбы с притертыми пробками на 100 мл.
7. Маркер по стеклу.
8. Чашки Петри.

**Содержание работы.** Сущность метода определения содержания растворенного кислорода по Винклеру заключается в том, что гидрат закиси марганца в щелочном растворе окисляется за счет растворенного в воде кислорода с образованием гидрата окиси марганца:



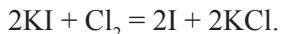
После растворения в соляной кислоте гидрат окиси марганца образует хлорный марганец:



Хлорный марганец легко распадается с выделением свободного хлора:



В присутствии йодистого калия свободный хлор выделяет из него эквивалентное количество йода:



Следовательно, два атома йода эквивалентны одному атому кислорода. Количество выделившегося йода оттитровывается тиосульфатом. Каждый миллилитр 0,02 н раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  эквивалентен 0,16 мг кислорода.

Растворенный кислород находится в природной воде в виде молекул  $\text{O}_2$ . На его содержание в воде влияют две группы противоположно направленных процессов: одни увеличивают концентрацию кислорода, другие уменьшают. К первой группе процессов, обогащающих воду кислородом, следует отнести процесс абсорбции кислорода из атмосферы; выделение кислорода водной растительностью в процессе фотосинтеза; поступление кислорода в водоем с дождевыми и снеговыми водами, которые обычно пересыщены кислородом.

К группе процессов, уменьшающих содержание кислорода в воде, относятся реакции потребления его на окисление органических веществ: биологическое окисление (дыхание растительных и животных организмов, расход кислорода на окисление

органических веществ микроорганизмами) и химическое окисление ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ). Кроме того, уменьшение содержания кислорода в воде может происходить вследствие выделения его в атмосферу из поверхностных слоев, но только в том случае, если вода при данной температуре и давлении окажется перенасыщенной кислородом.

Концентрация кислорода определяет величину окислительно-восстановительного потенциала и в значительной мере — направление и скорость процессов химического и биологического окисления органических и неорганических соединений. Кислородный режим оказывает глубокое влияние на жизнь водоема. Минимальное содержание растворенного кислорода, обеспечивающее нормальное развитие рыб, составляет около  $5 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$ . Понижение его до  $2 \text{ мг}/\text{дм}^3$  вызывает их массовую гибель (замор).

В соответствии с требованиями к составу и свойствам воды водоемов питьевого и санитарного пользования содержание растворенного кислорода в пробе, отобранной до 12 ч дня, не должно быть ниже  $4 \text{ мг}/\text{дм}^3$  в любой период года; для водоемов рыбохозяйственного назначения концентрация растворенного в воде кислорода не должна быть ниже  $4 \text{ мг}/\text{дм}^3$  в зимний период (при ледоставе) и  $6 \text{ мг}/\text{дм}^3$  — в летний.

Определение содержания кислорода в поверхностных водах включено в программу экологического мониторинга с целью оценки условий обитания гидробионтов, осуществляющих аэробное дыхание (прежде всего рыб). Этот показатель также косвенно оценивает процесс самоочистки поверхностных вод.

**Ход работы.** Анализ производится следующим образом:

1. Вода из водоема берется с соответствующей глубины батометром Рутнера. При наполнении колб на 100 мл к крану батометра присоединяют резиновую или стеклянную трубку, которая опускается через горлышко до дна склянки. Необходимо следить, чтобы через воду не проскакивали пузырьки воздуха. Воду дают перелиться через верх склянки: должно смениться 2–3 объема. Колбы закрывают притертыми пробками так, чтобы под пробкой не оказалось пузырька воздуха.

2. После доставки колб в лабораторию их ставят в чашки Петри и в них тотчас же вносят дозатором, погружая его до самого дна и меняя каждый раз наконечник, по 0,5 мл раствора хлористого марганца и щелочного раствора йодистого калия. Колбу закрывают притертой пробкой так, чтобы под ней не осталось пузырьков воздуха, содержимое тщательно перебалтывают. В течение 30 мин осадку дают осесть.

3. После этого вводят 1 мл разбавленной 1 : 1 соляной кислоты, закрывают колбу пробкой и тщательно взбалтывают, чтобы осадок полностью растворился. Если этого не происходит, вводят еще 1 мл кислоты и повторяют процедуру.

4. Отбирают в двух повторностях мерными колбами по 50 мл жидкости в конические колбы на 250 мл, добавляют в них по пять капель крахмала, служащего индикатором, и титруют 0,02 н тиосульфатом до обесцвечивания раствора. Титрование проводится с использованием бюретки, которая предварительно промывается два раза раствором, используемым для титрования.

При проведении этой процедуры жидкость прикапывается по каплям, а коническая колба, обеспечивающая хорошую динамику жидкости, постоянно встряхивается.

**Представление результатов.** Результаты титрования заносятся в тетрадь и усредняются по двум повторностям. Количество растворенного кислорода определяется по формуле

$$x = \frac{0,16F \cdot n \cdot 1000}{V_1} - \frac{V_2 \text{ мг } O_2}{1 \text{ л}},$$

где  $n$  — количество 0,02 н раствора тиосульфата, пошедшего на титрование, мл;  $F$  — поправка на титр 0,02 н гипосульфита;  $V_1$  — объем воды в колбе, мл;  $V_2$  — объем взятых реактивов, мл.

Расчеты показывают, что если объемы колб, взятых для определений кислорода, различаются не более чем на 20 мл (в пределах 120–140 мл), то при титровании 50 мл объема ошибка из-за неравности объемов не превышает 0,25 %, а массовые расчеты результатов очень упрощаются и могут проводиться при указанном объеме титруемой жидкости по следующей формуле:

$$x = 0,16 \cdot F \cdot n \cdot 1000/49,6 = 3,22 \cdot F \cdot n \text{ мг } O_2/\text{л}.$$

Полученные результаты заносятся в табл. 3.7.

Таблица 3.7

### Результаты исследований

№ образца	Источник H <sub>2</sub> O	Содержание O <sub>2</sub> , мг/дм <sup>3</sup>	Уровень загрязненности
1			
2			

Делается вывод о состоянии каждого исследуемого образца.

## Работа 7

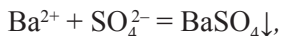
### Выявление загрязнения воздуха соединениями серы по содержанию сульфатов в коре растений

**Цель работы** — оценить загрязненность воздуха разных территорий соединениями серы на основе содержания сульфатов в коре древесных растений.

Сера является биогенным элементом. Растениям наиболее доступна сульфатная форма серы, содержащейся в почве, которая составляет 10–25 % от общего ее содержания. При сжигании любого вида топлива в атмосферу поступает сера в виде оксидов SO<sub>2</sub> и SO<sub>3</sub>, поэтому любая деятельность человека, связанная с огневыми технологиями, сопровождается загрязнением воздуха в первую очередь соединениями серы. В результате последовательных реакций с компонентами атмосферы оксиды превращаются в ионы SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Антропогенный вклад соединений серы в экосистемы составляет примерно половину от природных источников, а на урбанизированных территориях существенно превышает его.

Для оценки загрязнения воздуха соединениями серы удобно использовать пористые части растений (например, кору сосны как широко распространенного вида), которые механически адсорбируют их.

Содержание серы устанавливается турбидиметрическим методом, суть которого сводится к переводу определяемого компонента в форму взвеси малорастворимого соединения и определению интенсивности ослабления прохождения через нее света. Метод определения содержания сульфатов основан на реакции взаимодействия сульфат-ионов водной вытяжки растительной ткани с ионами бария:



в результате которой происходит помутнение раствора, интенсивность ослабления прохождения света определяется на спектрофотометре.

**Методы работы.** Определение содержания сульфатов в растениях проводится турбидиметрическим методом с использованием спектрофотометра.

*Реактивы.*

1) 20 % раствор  $\text{BaCl}_2$ .

2) Раствор  $\text{K}_2\text{SO}_4$  с концентрацией сульфат-иона 1000 мг/л. На аналитических весах берут навеску 0,1814 г сульфата калия, помещают в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Раствор хранят в стеклянной колбе с притертой пробкой в течение месяца. Затем путем разбавления исходного раствора готовят раствор сульфата калия с концентрацией сульфата 100 мг/л общим объемом 100 мл, а уже из него делают раствор сульфата калия с концентрацией сульфата 25 мг/л. Последний раствор не подлежит хранению и каждый раз готовится свежий.

*Оборудование.*

1. Мерные колбы на 100 мл.
2. Стаканчики на 50–100 мл.
3. Мерный цилиндр на 25 мл.
4. Маркер по стеклу.
5. Колбы конические на 100 мл.
6. Воронки маленькие.
7. Фильтры.
8. Мерные колбы на 25 мл.
9. Пипетки Мора на 5, 10, 15, 20 мл.



10. Плита нагревательная или водяная баня.

11. Спектрофотометр.

**Ход работы.** Кору сосны, собранную на участках различного антропогенного загрязнения, измельчают с помощью механической мельницы или пестиком в ступке и просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм. На технических весах берут навески перемолотого растительного материала, равные 1 г, помещают в подписанные стаканчики. *За сутки до выполнения замеров* для экстракции сульфатов к коре приливают мерной колбой 25 мл дистиллированной воды, стараясь полностью ее смочить.

Вытяжки фильтруют в конические колбы на 100 мл через гладкий фильтр, используя маленькие воронки. *Края фильтра не должны выступать над воронкой!* Из каждого фильтрата пипеткой Мора отбирают в мерные колбы на 25 мл в двух повторностях аликвоты по 5 мл. Вторая повторность выступает в качестве контроля к измерениям, так как служит для определения фонового поглощения, связанного с окраской вытяжки из коры. В первую колбу аккуратно, *не перемешивая осадок соли*, приливают 5 мл 20 % раствора  $\text{BaCl}_2$ , во вторую — такое же количество дистиллята.

При использовании турбидиметрического метода требуется определение поглощения света взвесями с известным содержанием исследуемого вещества для построения градуировочной шкалы. Из раствора сульфата калия с концентрацией сульфата 25 мг/л путем разбавления готовят растворы с концентрациями сульфата 0, 5, 10, 15, 20 мг/л. Для этого в мерные колбы на 25 мл вносят соответственно 0, 5, 10, 15, 20 мл раствора с концентрацией сульфата 25 мг/л пипеткой Мора, добавляют в каждую колбу по 5 мл 20 % раствора  $\text{BaCl}_2$  и нагревают на водяной бане до 50–60 °С (*правила пользования водяной баней приведены в конце работы*). Пробы охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

Для ускорения реакции соосаждения колбы с исследуемыми растворами и приготовленными для шкалы нагревают на водяной бане до 50–60 °С (горло колбы будет ощущаться рукой как горячее), затем охлаждают до комнатной температуры и доводят объем дистиллятом до метки. Далее в работе используется спектрофотометр,

являющийся ламповым прибором, перед работой его необходимо *предварительно прогреть в течение 20 мин.*

Оптические плотности калибровочных растворов проводят на спектрофотометре при длине волны 410 нм против дистиллированной воды.

Оптические плотности опытных растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 410 нм против водного экстракта образца без добавления хлористого бария для исключения фонового окрашивания за счет пигментов исследуемого материала.

***Представление результатов.*** Результаты должны быть занесены в таблицу (табл. 3.8).

Таблица 3.8

### Результаты исследований

Образец	$D_{410}$
0 мг/л $\text{SO}_4^{2-}$	
5 мг/л $\text{SO}_4^{2-}$	
10 мг/л $\text{SO}_4^{2-}$	
15 мг/л $\text{SO}_4^{2-}$	
20 мг/л $\text{SO}_4^{2-}$	
Проба 1	
Проба 2	
Проба 3	

По значениям, полученным для взвесей с известным содержанием исследуемого вещества, на миллиметровой бумаге строят градуировочный график. По оси ординат откладывают оптическую плотность ( $D$ ), по оси абсцисс — концентрацию сульфатов, мг/л ( $C$ ) (рис. 3.6). Затем по калибровочному графику переводят значения оптической плотности в экстрактах коры в значения концентрации сульфатов.

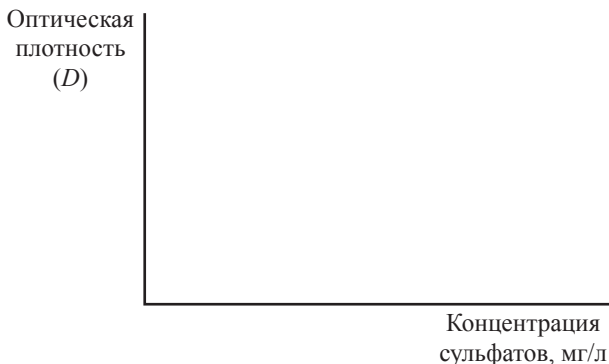


Рис. 3.6. Градуировочный график

Далее содержание сульфатов в образцах рассчитывают на сухую кору по формуле

$$C = \frac{C_{\text{гр}} \cdot V_1 \cdot V_2}{V_3 \cdot a},$$

где  $C$  — концентрация сульфатов в пробе, мг/кг;  $C_{\text{гр}}$  — концентрация сульфатов в пробе, найденная по калибровочному графику, мг/л;  $V_1$  — объем мерной колбы, используемой при разбавлении калибровочного раствора, мл;  $V_2$  — объем, используемый при приготовлении водной вытяжки, л;  $V_3$  — аликвотный объем пробы, мл;  $a$  — навеска, кг.

Делается вывод о степени загрязнения воздуха исследуемых участков оксидами серы по сравнению с фоновым содержанием  $\text{SO}_4^{2-}$  в коре, которое для сосновых сообществ северо-западной территории России составляет 100–300 мг/кг.

### Порядок работы на лабораторной бане

Лабораторная баня ПЭ-4300 предназначена для нагревания проб до заданной температуры и поддержания стабильной температуры в пробирках. Баня может применяться для проведения различных процессов в фиксированных температурных условиях в диапазоне от температуры окружающей среды до +100 °С. Это сложное

электротехническое устройство с микропроцессорным управлением и индикацией текущих параметров функционирования.

Порядок работы:

1. Убедиться в том, что ванна бани заполнена водой (теплоносителем), уровень которой не ниже 1 см от крышки. В противном случае заполнить ванну дистиллированной водой с добавлением карбоната натрия до концентрации 0,1 г/л. Объем ванны составляет 13,5 л.

2. Подключить баню к сети переменного тока, для этого вставить штепсельную вилку в розетку сетевого питания.

3. Включить баню выключателем сетевого питания «Сеть» и проконтролировать свечение зеленым цветом индикатора «Авария», а на цифровом индикаторе «Температура» — значение установки температуры.

4. Задать на цифровом индикаторе «Температура» с помощью кнопок «Набор ◀» и «Набор ▶» необходимое значение температуры нагревания теплоносителя.

5. Нажать на кнопку «Установка» для перевода бани в рабочий режим нагревания. При этом свечение светодиодного индикатора «Авария» должно измениться с зеленого цвета на переменный красно-зеленый, а на цифровом индикаторе «Температура» должно отображаться текущее значение температуры теплоносителя.

6. Поместить подготовленную химическую посуду над отверстиями, отрегулировав их размеры с помощью съемных колец.

*Примечания:* 1. Установленное значение температуры нагревания теплоносителя сохраняется в памяти электронного блока и воспроизводится при последующих включениях бани.

2. Не допускать полного испарения воды в бане во время ее работы. При недопустимом уменьшении уровня теплоносителя в ванне индикатор «Авария» начинает светиться красным цветом.

7. По окончании работы выключить баню выключателем сетевого питания «Сеть» и вынуть вилку из розетки.

## Работа 8

### Оценка состояния атмосферного воздуха

**Цель работы** — оценить качество атмосферного воздуха разных территорий по содержанию диоксида азота ( $\text{NO}_2$ ) и сернистого ангидрита ( $\text{SO}_2$ ).

Сера и азот являются обязательными составляющими органических веществ. Их техногенное поступление в атмосферу связано со сжиганием угля, нефти, газа и других видов топлива. Именно поэтому основная доля загрязнения атмосферы оксидами серы и азота приходится на топливную энергетику и транспорт. Диоксид серы также достигает больших количеств в отходах предприятий металлургической промышленности, поскольку металлы в рудах содержатся преимущественно в виде сульфидов (пирит, галенит, цинковая обманка), иногда сульфатов.

В атмосфере сернистый ангидрит претерпевает растворение и окисление (или наоборот) и превращается в серную кислоту.

Среди семи оксидов азота одним из наиболее опасных является диоксид азота. Предполагается, что десятая часть его превращается в атмосфере в азотную кислоту.

Кислые осадки оказывают негативное влияние на рост и развитие растений, вызывая, в частности, усыхание леса. Их выпадение способствует подкислению почвы и снижению численности почвенных бактерий, в первую очередь нитри- и аммонифицирующих, что снижает скорость деструкции органических остатков. Диоксид азота и сернистый ангидрит вызывают заболевания органов дыхания человека.

**Методы работы.** Концентрация диоксида азота и сернистого ангидрита определяется с помощью универсального газоанализатора ГАНК-4 (рис. 3.7). Имеющийся в лаборатории прибор оснащен встроенными датчиками для определения концентрации диоксида азота и сернистого ангидрита в атмосферном воздухе. Диапазон измерений для  $\text{NO}_2$  составляет  $0,02\text{--}1\text{ мг/м}^3$ , для  $\text{SO}_2$  —  $0,025\text{--}5\text{ мг/м}^3$ .

**Оборудование.** Универсальный газоанализатор ГАНК-4.

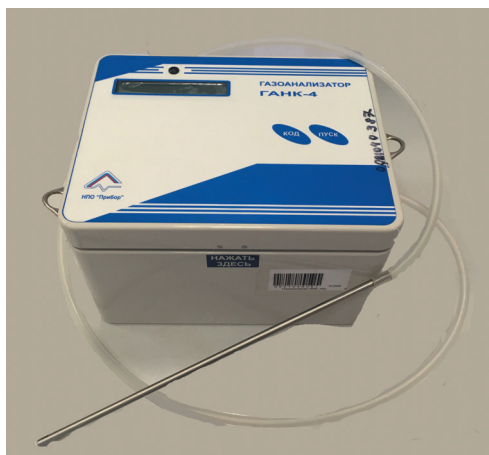


Рис. 3.7. Газоанализатор ГАНК-4

Ход работы. Прежде всего следует ознакомиться с порядком выполнения работ с газоанализатором ГАНК-4 (приведен в конце работы).

Далее следует получить маршрут, по которому следует проводить измерения концентрации газов.

**Внимание!** Замеры в каждой исследуемой точке проводятся в трехкратной повторности и в условиях города на двух высотах (1,5 и 0,5 м).

**Представление результатов.** Результаты должны быть представлены в виде табл. 3.9:

Таблица 3.9

### Результаты исследований

Местоположение точки	Содержание NO <sub>2</sub> , мг/м <sup>3</sup>				Содержание SO <sub>2</sub> , мг/м <sup>3</sup>				Превышение ПДК (+, -)
	1	2	3	Среднее	1	2	3	Среднее	
1.									
2.									
....									

Делается вывод о качестве атмосферного воздуха разных территорий и высказываются предположения о возможных причинах его загрязнения.

### **Порядок выполнения работ с газоанализатором ГАНК-4**

1. К «Входу» присоединить зонд отбора проб.

При измерениях в запыленной среде на входе в газоанализатор использовать пылевой фильтр ФП-1.

2. Включить прибор.

3. Выбрать код вещества и номер объекта следующим образом:

3.1. Нажать кнопку «Пуск» и удерживать в нажатом состоянии не менее 2 с. На экране появится подменю «Код вещества», при этом цифра десятков будет мигать.

Для установки провести следующие операции:

а) кнопкой «Код» установить необходимый номер кода вещества (01 — NO<sub>2</sub>, 02 — SO<sub>2</sub>):

б) кнопкой «Код» установить необходимое число;

в) кнопкой «Пуск» перейти к разряду единиц кода вещества;

г) кнопкой «Код» установить необходимое число.

Код вещества установлен.

Далее по такому же принципу, нажимая поочередно кнопки «Пуск» и «Код», установить номер объекта. Если последняя цифра номера объекта мигает, значит, газоанализатор готов к началу работы и проведению измерений по установленному веществу и номеру объекта. Для начала работы необходимо нажать один раз кнопку «Пуск».

3.2. Для возобновления измерений по ранее установленному веществу нажать кнопку «Пуск» 5 раз.

4. Выполнить необходимое количество измерений (не менее двух-трех). Снять показания  $C_{\text{тек}}$ .

5. Для остановки измерений с выходом в «Дежурный режим» необходимо одновременно нажать кнопки «Код» и «Пуск» два раза.

6. Для измерения другого вещества вернуться к п. 3.

## Работа 9

### Оценка загрязнения почв тяжелыми металлами

**Цель работы** — оценить качество почв по содержанию в них тяжелых металлов.

Повышенные концентрации тяжелых металлов ведут к нарушению процессов жизнедеятельности у живых организмов. Почвы наследуют уровень валового содержания элементов, в том числе ТМ, в почвообразующих породах. В процессе почвообразования может происходить потеря элементов или их перераспределение.

На поверхность почв также постоянно поступают различные вещества, содержащие ТМ, из атмосферы, куда они в значительной степени попадают из антропогенных источников. Вследствие хорошо выраженной катионной поглотительной способности почва прочно удерживает положительно заряженные ионы металлов. Именно поэтому постоянное поступление их даже в малых количествах на протяжении длительного времени способно привести к существенному накоплению металлов в почве. Знание содержания ТМ в почвах дает возможность судить о состоянии почв и принимать соответствующие меры, направленные на сохранение почвенного плодородия.

**Методы работы.** Содержание тяжелых металлов в почвах определяется методами *атомно-абсорбционной спектроскопии* (ААС). Это распространенный в аналитической химии инструментальный метод количественного элементного анализа, позволяющий установить содержание почти 70 элементов периодической системы по атомным спектрам поглощения (абсорбции) для определения содержания металлов в растворах их солей.

Прибором для ААС служит *атомно-абсорбционный спектрометр*, основными элементами которого являются источник света, атолизатор, спектральный прибор и электронная система.

Определение содержания элемента в пробе проводят с использованием экспериментально установленной функциональной зависимости между аналитическим сигналом и концентрацией элемента в градуировочном растворе.



Атомно-абсорбционная спектрометрия наиболее широко разработана для работы с жидкими веществами

*Оборудование.* Атомно-абсорбционный спектрометр.

***Ход работы.***

1. Проводят пробоотбор (отбирают образцы почвы, которые максимально полно отражают ее химический состав).

2. Из подготовленной к анализу почвенной пробы отбирают определенную навеску, растворяют ее в подходящих растворителях с целью перевода изучаемого элемента в раствор.

3. Из полученного фильтрата отбирают фиксированную аликвоту и подготавливают рабочий раствор для анализа по тем же принципам.

4. Готовят серию рабочих растворов с известными концентрациями исследуемых ТМ, охватывающих необходимый диапазон градуировочного графика.

5. Вводят анализируемое вещество в атомизатор и производят измерение аналитического сигнала.

6. Последовательно вводя в атомизатор растворы с известными концентрациями измеряемых ТМ, получают градуировочную шкалу (зависимость между аналитическим сигналом и концентрацией элемента в градуировочном растворе).

7. По данной шкале определяют концентрацию изучаемого элемента в растворе пробы и в исходной пробе.

*Номера ваших образцов в табл. 3.10 соответствуют номеру вашей рабочей группы.*

Атомно-абсорбционным методом анализа было установлено содержание семи металлов в аликвоте, равной 20 мл. Аликвота была отобрана из фильтрата, полученного после взаимодействия 10 г пахотного горизонта почвы со 100 мл реактива.

***Представление результатов.*** Результаты должны быть представлены в виде табл. 3.11. Содержание элемента в аликвоте (мг/мл) пересчитывается на его содержание в почве (мг/кг). Нормативы содержания изучаемых элементов в почве (ПДК — предельно допустимые концентрации, ОДК — ориентировочно допустимые концентрации) и кларки берутся из литературы.

Таблица 3.10

**Исходные данные**

№ группы	№ образца	Содержание металлов в аликвоте 20 мл, мг						
		Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
1	1	0,013	0,148	0,099	45,33	0,546	0,025	0,123
	2	0,060	0,297	0,023	121,46	0,232	0,077	0,067
2	3	0,017	0,344	0,011	85,23	0,134	0,098	0,015
	4	0,055	0,110	0,089	33,59	0,432	0,042	0,101
3	5	0,099	0,546	0,013	106,98	0,148	0,023	0,125
	6	0,023	0,232	0,030	34,78	0,297	0,067	0,077
4	7	0,011	0,134	0,017	22,54	0,344	0,015	0,098
	8	0,089	0,432	0,055	97,09	0,110	0,101	0,142

Таблица 3.11

**Сопоставление содержания элементов в почве  
с нормативами и кларками**

Содержание ТМ	Металл						
	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
Образец X, мг/кг							
Образец Y, мг/кг							
ПДК, единицы измерения							
ОДК, единицы измерения							
Кларк, единицы измерения							

Вывод должен включать оценку содержания ТМ в изучаемых почвах, возможные причины превышения концентрации (если оно будет обнаружено) и предполагаемый источник их загрязнения.

## Работа 10

### Оценка загрязнения атмосферного воздуха по снежной пробе

**Цель работы** — оценить качество атмосферного воздуха по содержанию кислотных оксидов или веществ со щелочными свойствами в снежной пробе.

Снежный покров в период своего формирования накапливает практически все вещества, поступающие в атмосферу, поэтому его мониторинг является частью мониторинга атмосферы. Расчетным методом установлено, что за счет присутствия в атмосферном воздухе  $\text{CO}_2$  значение рН осадков составляет 5,6. Таким образом, все отклонения в меньшую сторону от этого значения будут связаны с загрязнением атмосферы кислотными оксидами (в первую очередь  $\text{SO}_2$  и  $\text{NO}_2$ ), а в большую — с присутствием в ней гидрокарбонатов К, Са, Mg, характерных в первую очередь для ТЭЦ и котельных, работающих на угле. Интегральная снежная проба исследуется в конце зимы (на Среднем Урале это конец марта).

**Методы работы.** Определение загрязнения атмосферы кислотными оксидами или веществами со щелочными свойствами основано на определении рН снега потенциометрическим методом.

*Оборудование.*

1. Трубка и поршень для отбора проб снега.
2. Емкости (пакеты) для отбора проб снега (7).
3. Химические стаканы объемом 500–1000 мл (7).
4. Колбы конические на 250 мл (7).
5. Воронки большие (7).
6. Фильтры «красная лента» (7).
7. Стаканчики на 100 мл (7).
8. рН-метр.
9. Маркер по стеклу.

*Ход работы.*

1. Пробы снега отбираются на всю глубину снежного покрова специальной трубкой по градиенту возможного загрязнения промышленным предприятием или автотранспортом. Общий объем

снега из каждой точки отбора должен составлять не менее 500 мл, поэтому при необходимости в отдельной точке отбираются и смешиваются несколько проб.

2. Место и схему отбора проб, их общее количество уточните у преподавателя.

3. Пробы снега переносятся в предварительно подписанные большие химические стаканы и нагреваются на плите до полного таяния.

4. Для очистки от механических загрязнений получившиеся растворы фильтруются в подписанные колбы через рыхлый фильтр «красная лента».

5. По мере того как профильтруется около 50 мл жидкости, ее переливают в стаканчик для определения pH.

6. pH-метр (рис. 3.8) калибруется по двум стандартным растворам, имеющим наиболее близкие значения pH к исследуемому снегу.

7. Производятся замеры pH исследуемых образцов.

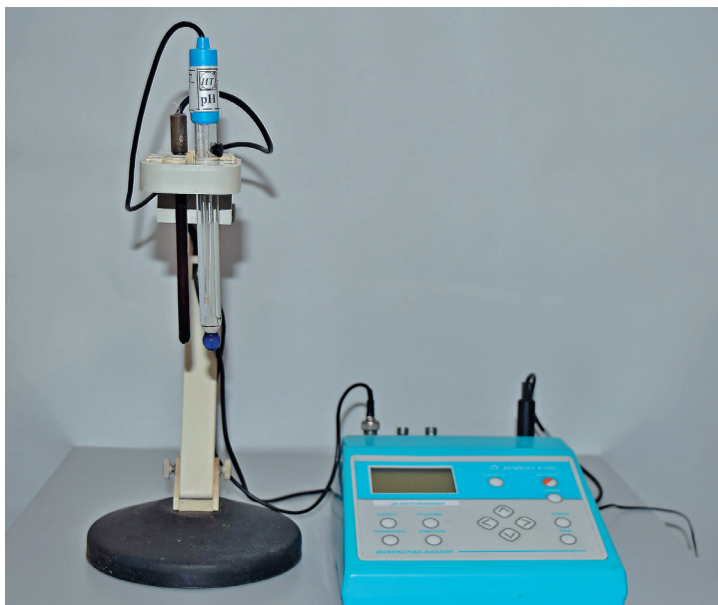


Рис. 3.8. pH-метр

**Представление результатов.** Результаты должны быть представлены в виде табл. 3.12.

Вывод должен содержать заключение об отсутствии или присутствии в атмосферном воздухе кислотных оксидов или веществ, обладающих щелочными свойствами, и их возможных источниках на исследуемой территории.

Таблица 3.12

**Результаты исследований**

№ образца	Расстояние от загрязняющего объекта, м	Значение pH
1		
...		

## Работа 11

### Определение хрома в поверхностных водах

**Цель работы** — определить содержание хрома в поверхностных водах.

Хром входит в число тяжелых металлов, загрязняющих природу. В природных соединениях хром, как правило, представлен трехвалентной формой. Отходы промышленности содержат шестивалентный хром. Считается, что токсические свойства присущи именно ему. Для хрома доказаны канцерогенный, мутагенный и тератогенный эффекты.

В поверхностные воды соединения хрома (III) и (VI) попадают в результате выщелачивания их из горных пород (серпентинитов и других хромосодержащих материалов). Некоторые количества хрома поступают в воду в процессе разложения организмов и растений из почв, сформировавшихся на обогащенных хромом породах. Значительные количества хрома могут поступать в водоемы со сточными водами гальванических цехов машиностроительных, станкостроительных, автомобильных, авиационных заводов, красильных

цехов текстильных предприятий, кожевенных заводов и предприятий химической промышленности. Понижение концентрации ионов хрома может наблюдаться в результате процессов адсорбции и потребления их водными организмами, например, сине-зелеными водорослями. В поверхностных водах соединения хрома находятся в растворенном и взвешенном состояниях, соотношение между которыми зависит от состава вод, температуры, pH. Взвешенные формы хрома содержатся на глинах, остатках растительных и животных организмов. В растворенной форме хром может находиться в виде хроматов или бихроматов.

При аэробных условиях хром в природных водах устойчив и может существовать продолжительное время. При анаэробных условиях он образует соли, которые в нейтральной и щелочной средах гидролизуются с выделением гидроксидов. Комплексообразующие неорганические и органические вещества, присутствующие в природных водах, препятствуют гидролизу. В речных незагрязненных и слабозагрязненных водах содержание хрома колеблется от нескольких десятых микрограмма до нескольких микрограммов на 1 л. В загрязненных водоемах оно может достигать нескольких десятков или даже сотен микрограммов на 1 л. Среднее содержание в морских водах — 0,05 мкг/л, в подземных водах — обычно в пределах  $n - n \cdot 10^2$  мкг/л.

Соединения хрома (III) и хрома (VI) в повышенных количествах обладают токсическими свойствами. Содержание их в водоемах не должно превышать предельно допустимую концентрацию: для хрома (VI) — 0,05 мг/л, для хрома (III) — 0,5 мг/л.

**Методы работы.** Содержание хрома проводится спектрофотометрическим методом [ГОСТ 31956-2012].

#### *Реактивы.*

1) Стандартные растворы бихромата калия:

— основной стандартный раствор, содержащий 100 мкг/л хрома: 0,0283 г  $K_2Cr_2O_7$  помещают в мерную колбу на 100 мл, приливают дистиллированную воду до половины объема, закрывают пробкой и тщательно перемешивают до полного растворения кристаллов, после чего доводят объем раствора до метки;

— рабочий стандартный раствор, содержащий 1 мкг/л хрома: 1 мл основного стандартного раствора разбавляют водой до метки в мерной колбе на 100 мл. Раствор готовят в день определения.

2) Раствор серной кислоты, разбавленной 1 : 9. Отмерить цилиндром 90 мл дистиллированной воды, перелить в колбу, затем добавить к ней 10 мл концентрированной  $H_2SO_4$ , отмеренной сухим цилиндром.

3) Фосфорная кислота концентрированная.

4) Раствор дифенилкарбазида: 0,1 г дифенилкарбазида растворяют в 50 мл этилового спирта, добавляют 20 мл раствора серной кислоты, разбавленной 1 : 9.

5) Раствор гидроксида аммония: 500 мл концентрированного 25 %-го раствора гидроксида аммония разбавляют дистиллированной водой до 1 л.

6) Раствор перманганата калия: 0,16 г реактива растворяют в мерной колбе на 25 мл дистиллированной водой.

7) Раствор сульфита натрия: 0,13 г реактива растворяют в 10 мл дистиллированной воды. Необходимо использовать свежеприготовленный раствор.

#### *Оборудование.*

1. Мерные колбы на 50 мл.
2. Мерный цилиндр на 50 мл.
3. Маркер по стеклу.
4. Колбы конические на 100 мл.
5. Воронки большие.
6. Фильтры.
7. Плита нагревательная или водяная баня.
8. Спектрофотометр.
9. Батометр.

**Содержание работы.** Метод предназначен для анализа поверхностных вод и позволяет определить от 1 до 200 мкг хрома/л. Если содержание хрома меньше 1 мкг/л, то пробу необходимо концентрировать упариванием. Метод основан на взаимодействии хрома (VI) в слабокислом растворе с дифенилкарбазидом и образованием растворимого красно-фиолетового комплексного соединения. Хром

(VI) предварительно восстанавливают сернистой кислотой для сведения к минимуму потерь хрома в процессе дальнейшего окисления перманганатом калия при кипячении пробы, так как хром (III) менее летуч. Оптическую плотность раствора измеряют при длине волны  $\lambda = 540$  нм. Минимальное определяемое количество — 1 мкг хрома (VI) в 1 л. Относительное стандартное отклонение при концентрациях от 1 до 100 мкг хрома (VI) составляет 4 %, при 200 мкг хрома (VI) в 1 л — 2 % ( $n = 27$ ). Продолжительность определения единичной пробы 50 мин. Серия из десяти проб определяется за 2 ч.

Определению мешают ионы ртути при маловероятных для поверхностных вод концентрациях свыше 200 мкг/л. С дифенилкарбазидом вступают в реакцию и окрашивают раствор ванадий (VI) и молибден (VI). Их влиянием при концентрациях, характерных для большинства природных вод, можно пренебречь. Мешает определению железо (III), образующее с дифенилкарбазидом соединения, окрашивающие анализируемый раствор в желто-бурый цвет. Для его устранения в раствор добавляют фосфорную кислоту.

**Ход работы.** Пробы воды отбирают из водоема батометром, переносят в полиэтиленовые емкости до самого верха и плотно закрывают пробками. В лаборатории пробы фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мк для отделения взвешенных веществ и добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты на 1 л пробы. Затем 40 мл исследуемой пробы помещают в коническую колбу на 100 мл, добавляют 2 мл серной кислоты (1 : 1), 1 мл раствора сульфита натрия и оставляют на 10 мин. После этого колбу нагревают до выделения паров и снова выдерживают 10 мин.

В восстановительную пробу добавляют по каплям раствор перманганата калия до появления легкой розовой окраски, кипятят раствор 10 мин. Охлажденный раствор помещают в мерную колбу на 50 мл, нейтрализуют раствором гидроксида аммония (1 : 1) по универсальной индикаторной бумаге, доводят объем до метки 50 мл дистиллированной водой. Приливают 0,15 мл раствора фосфорной кислоты, перемешивают, добавляют 2,5 мл раствора дифенилкарбазида и снова перемешивают. Через 15 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при  $\lambda = 540$  нм.

Содержание хрома (в мкг) находят по калибровочному графику.



**Построение калибровочного графика.** В мерные колбы вместимостью 50 мл приливают рабочий стандартный раствор хрома (III) в количествах 0; 0,05; 0,1; 5; 10 мл и доводят объем до метки дистиллированной водой. Концентрации этих растворов соответственно равны 0; 1; 2; 100; 200 мкг хрома/л. Дальнейшие определения производят аналогично опытным растворам. Оптическую плотность растворов измеряют относительно дистиллированной воды. Строят калибровочную кривую, откладывая на оси абсцисс величину концентрации хрома (VI) в мкг/л, на оси ординат — оптическую плотность.

**Представление результатов.** По значениям, полученным для растворов с известным содержанием хрома, на миллиметровой бумаге строят градуировочный график. По оси ординат откладывают оптическую плотность ( $D$ ), по оси абсцисс — концентрацию хрома мкг/л ( $C$ ) (рис. 3.9).

Далее по калибровочному графику переводят значения оптической плотности в исследуемых пробах в значения концентрации хрома.

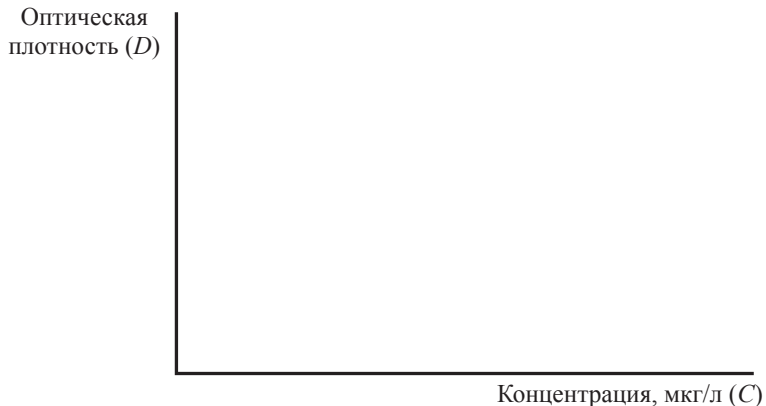


Рис. 3.9. Градуировочный график

Затем рассчитывают суммарное содержание хрома  $C_x$  (в мкг/л) по формуле

$$C_x = C \cdot n,$$

где  $C$  — концентрация хрома, найденная по калибровочной кривой, мкг хрома/л;  $n$  — степень разбавления исходной пробы воды (в случае если взято 40 мл и разбавлено до 50 мл,  $n = 1,25$ ).

Делается вывод о степени загрязнения исследуемых проб воды соединениями хрома.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Как классифицируются бумажные фильтры по диаметру пор?
2. Каковы общие правила фильтрования веществ?
3. Рассчитайте навеску вещества для приготовления заданного объема раствора определенной молярности.
4. Рассчитайте навеску вещества для приготовления заданного объема раствора определенной нормальности.
5. Рассчитайте навеску вещества для приготовления заданного объема раствора с определенным процентным содержанием вещества.
6. Рассчитайте навеску вещества для приготовления заданного объема раствора, содержащего определенное количество (в мг) его компонента.
7. Переведите единицы измерения массы, объема или концентрации в микро-, милли-, санти-, деци-, кило-.
8. Каковы основные правила работы с электронными лабораторными весами?
9. Каковы основные правила работы с центрифугой?
10. Каким приборам требуется предварительное прогревание в течение 20 мин?
11. Назовите основной принцип титриметрического метода в оценке основных сред.
12. Назовите основной принцип визуального метода в оценке основных сред.
13. Что такое биотестирование?
14. Почему при биотестировании оценке подвергается водная вытяжка?
15. Какая среда используется для культивирования контрольных организмов?

16. Как проверяется надежность тест-культур?
17. Какой основной показатель состояния живых организмов используется при проведении биотестирования?
18. На каком основании делается вывод о токсичности среды при биотестировании с использованием хлореллы?
19. На каком основании делается вывод о токсичности среды при биотестировании с использованием редиса?
20. Каково значение ПДК в атмосферном воздухе для  $\text{SO}_2$ ?
21. Каково значение ПДК в атмосферном воздухе для  $\text{NO}_2$ ?
22. В чем суть изменения пигментного комплекса хлоропластов при действии поллютантов на растения?
23. Какова последовательность выделения пигментов?
24. Каковы основные факторы, влияющие на содержание кислорода в воде и последствия изменения концентрации  $\text{O}_2$  в водной среде?
25. Каковы основные принципы определения кислорода химическим методом?
26. В чем причины колебания содержания кислорода в воде в течение разных сезонов года?
27. Каким образом можно сравнить загрязненность воздуха разных территорий соединениями серы на основании содержания сульфатов в коре растений?
28. Каков принцип турбидиметрического метода?
29. Каким образом строится калибровочная кривая и как по ней рассчитывается содержание сульфат-ионов?
30. Каковы основные источники загрязнения среды производными серы?
31. Какую информацию о загрязнителях воздуха можно получить на основании значений pH снега?
32. Какая форма хрома является наиболее токсичной?

### 3.2. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ДРЕВОСТОЕВ В ЗОНАХ ДЕЙСТВИЯ АТМОСФЕРНЫХ ПРОМЫШЛЕННЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ

Важнейшей задачей сохранения и защиты лесов является объективная оценка состояния древостоев, расположенных на территориях, примыкающих к промышленным центрам. Оценка ущерба, наносимого аэропромышленными загрязнениями, определение размеров компенсации за ущерб, направленность и характер мероприятий по повышению устойчивости лесных насаждений должны базироваться на точной и объективной информации о состоянии древостоев. Одним из наиболее перспективных подходов к оценке состояния лесов является комплексное использование ростовых, таксационных и физиологических характеристик древостоев. Полученные данные могут быть основой для экологического зонирования конкретных территорий. При этом результаты зонирования представляются в виде матриц величин оценок либо в виде карт-схем, составленных с помощью топографических карт, а также ГИС-технологий.

#### Работа 1

#### **Морфофизиологическая оценка состояния сосновых древостоев**

**Цель работы** — оценка состояния искусственных насаждений (молодняков) сосны, произрастающих в условиях атмосферных загрязнений. Используя морфофизиологический подход и математическую модель, необходимо рассчитать отдельно для каждой пробной площади показатели состояния древостоев по каждому параметру и определить обобщенный показатель состояния.

**Содержание работы.** Сосна обыкновенная относится к основным лесообразователям Уральского региона, поскольку начиная с XIX в. вокруг развивающихся промышленных центров Урала

создавались в основном культуры сосны. Она использована в качестве объекта. В основу морфофизиологической оценки состояния древостоев положен метод оценки по комплексу морфометрических (ростовых и таксационных) и физиологических характеристик (рис. 3.10). Морфометрические: диаметр, высота, прирост за 5 лет по диаметру, прирост за 5 лет по высоте; физиологические: содержание хлорофилла «а» в хвое, квантовая эффективность фотосинтеза.



Рис 3.10. Схема проведения комплексной морфофизиологической оценки состояния сосновых древостоев

В работе используются данные, полученные при обследовании пробных площадей (ПП) сосновых молодняков на территории, прилегающей к Первоуральско-Ревдинскому промышленному узлу (Средний Урал) (рис. 3.11). Основным источником атмосферного загрязнения в период сбора данных (1996–1998) являлся Среднеуральский медеплавильный завод (СУМЗ), который в последующие годы значительно сократил объемы выбросов. Для расчетов используются характеристики древостоев 77 пробных площадей.

При закладке ПП руководствовались следующими ограничениями: по составу это должны быть чистые или смешанные сосновые древостои с долевым участием сосны не менее 5 единиц, возраст

древостоев 20–40 лет, удаленность от автомобильных и железных дорог не менее 100 м. Для всех ПП определены экспозиция, крутизна и часть склона. Пробные площади ограничивают в натуре с помощью угломерных инструментов визирами, а по углам закрепляют столбами.

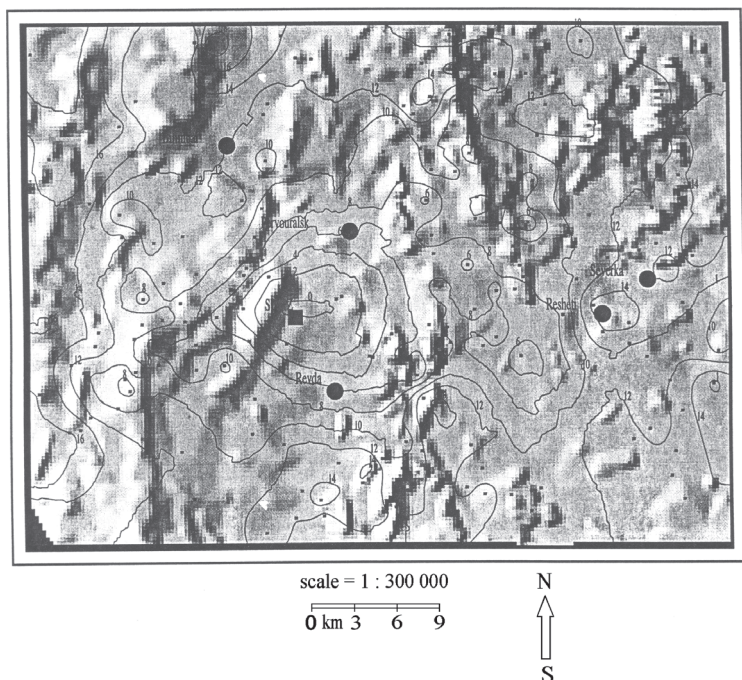


Рис. 3.11. Карта-схема района исследований, составленная с помощью ГИС (теневая модель рельефа местности).  
Квадрат — СУМЗ, кружок — центр населенного пункта

Каждая пробная площадь имеет, как правило, не менее 300 деревьев преобладающей породы. На всех ПП выделяют и маркируют группу из 40 деревьев с диаметрами, наиболее близкими к среднему. У деревьев из этих групп определяют радиальные приросты за последние 5 лет путем взятия кернов древесины приростным буром. У трех модельных деревьев определяют высоты и приросты по высоте за этот же период. Для учета возрастной неоднородности

исследуемых древостоев на всех ПП величины диаметров и высот приводят к 30 годам. Для этого к значениям диаметров и высот прибавляют или вычитают приросты за соответствующие периоды.

В качестве физиологических используются характеристики фотосинтетического аппарата хвои сосны: содержание хлорофилла «а» и квантовая эффективность (КЭ) второй фотосистемы, отражающая КПД фотосинтеза на уровне первичного преобразования световой энергии.

На каждой пробной площади у 10–15 деревьев из средней части кроны южной экспозиции срезают несексуализированные побеги второго года. В лабораторных условиях определяют содержание хлорофилла «а» в хвое путем его экстрагирования 80 %-м раствором ацетона с последующим определением оптической плотности экстракта и расчетом концентрации пигмента по формуле Вернона. Параметр КЭ определяют при помощи портативного импульсного флуориметра РАМ-2000. Поскольку физиологические характеристики по сравнению с морфометрическими изменяются достаточно быстро, измерения этих величин необходимо производить неоднократно. Для учета сезонных изменений через каждые две недели в течение вегетации производят повторные измерения физиологических характеристик на контрольной ПП.

Предварительные исследования показали, что в условиях Среднего Урала физиологические характеристики изменяются незначительно в пределах одного периода времени (две недели) и наиболее стабильны в июле — августе, когда завершаются рост и дифференцировка тканей. Учет этих требований и особенностей абсолютно необходим в экофизиологических исследованиях ввиду высокой значимости сезонно-возрастных изменений физиолого-биохимических характеристик растений. Сравнение результатов однократных измерений на участках территории, отличающихся стадиями сезонно-возрастной трансформации состояния, зачастую приводит к существенным ошибкам при проведении экологического мониторинга лесов и других исследований.

При комплексной оценке древостоев используют математическую модель, разработанную на основе функции желательности Харрингтона. В основе модели лежит способ преобразования

натуральных значений частных признаков (диаметр, высота, прирост и т. д.) в шкалу кодированных значений с последующим переводом в шкалу безразмерных величин или *показателей состояния* (ПС) по формуле 1:

$$d = 100 \cdot \exp[-\exp(-y'_i)], \quad (1)$$

где  $d$  — показатель состояния;  $y'_i$  — кодированное значение измеряемой характеристики.

Преобразование натуральных (измеренных) значений характеристик ( $y_i$ ) в кодированные ( $y'_i$ ) производят по формуле (2):

$$y'_i = A_0 + A_1 \cdot y_i, \quad (2)$$

где  $y'_i$  — значение признака на  $i$ -й пробной площади,  $A_0$  и  $A_1$  — безразмерные коэффициенты,  $y_i$  — натуральное значение характеристики на  $i$ -й пробной площади.

Для нахождения коэффициентов  $A_0$  и  $A_1$  используют способ задания базовых точек. Значению признака на контрольной пробной площади присваивают кодированное значение  $y'_k = 0,75$ , что соответствует значению  $d_k$ , равному 62 баллам. В качестве второй характеристической точки выступает «худшее» (наименьшее) натуральное значение признака. На шкале  $y'_k$  этой величине присваивают кодированное значение  $y'_x = -1,1$ , что соответствует 5 баллам на шкале показателей состояния.

Таким образом, коэффициенты  $A_0$  и  $A_1$  в формуле (2) находят по следующим формулам (3, 4):

$$A_1 = 1,85/(y_k - y_x), \quad (3)$$

$$A_0 = 0,75 - A_1 \cdot y_k, \quad (4)$$

где  $y_k$  — натуральное значение характеристики на контрольной ПП;  $y_x$  — натуральное значение характеристики на «худшей» ПП.

При оценке состояния объекта, например дерева в древостое или древостоя в лесной экосистеме, который описан с помощью  $n$  признаков, величина оценки лимитируется ПС признака, имеющего минимальное значение.



В связи с этим, при обобщении ПС используют не среднее арифметическое, а среднее геометрическое значение, имеющее более высокую «чувствительность» к малым значениям усредняемых величин:

$$D = \sqrt[n]{d(1) \cdot d(2) \cdot \dots \cdot d(n)}, \quad (5)$$

где  $D$  — обобщенный показатель состояния (ОПС);  $d(1) \dots d(n)$  — значения ПС по отдельным параметрам;  $n$  — количество параметров.

Расчет ОПС по морфометрическим характеристикам производят на основе величин ПС по ростовым параметрам, а ОПС по физиологическим характеристикам — на основе ПС по физиологическим параметрам. Расчет ПС по физиологическим характеристикам проводят отдельно по каждому периоду времени, в пределах которого изменения измеряемых параметров являются незначительными. На основе морфометрических и физиологических показателей состояния рассчитывают комплексный ОПС.

Для определения качественного состояния древостоев используют интервалы величин ОПС. Если величины ОПС имеют значения 25 баллов или ниже, то состояние оценивают как очень плохое, 26–35 — как плохое, 36–45 — как удовлетворительное и свыше 45 — как хорошее.

Приведем пример расчета ПС и ОПС.

Имеется набор морфометрических и физиологических параметров древостоев на девяти пробных площадях. Ниже приведен расчет ПС древостоев по одной характеристике — содержанию хлорофилла «а» в хвое (табл. 3.13).

Пробная площадь 10 — контрольная ( $y_k$ ), на ней измерения суммарного содержания хлорофилла «а» проводились дважды в связи с сезонными изменениями данной характеристики. Необходимо в пределах каждого периода времени отдельно найти минимальные значения рассчитываемой характеристики ( $y_x$ ).

Таблица 3.13

**Содержание хлорофилла *a* в хвое сосны на пробных площадях  
по периодам времени**

Номер ПП	11	23	31	40	10	15	27	38	49	10
Содержа- ние хло- рофилла <i>a</i> , мг/г	2,140	2,946	2,056	2,505	2,332	1,991	2,040	2,099	2,356	2,081
Период времени, отн. ед.	I	I	I	I	I	II	II	II	II	II

Для первого периода

$$y_k = 2,332 \text{ мг/г}; y_x = 2,056 \text{ мг/г}.$$

Далее рассчитываются коэффициенты  $A_1$  и  $A_0$ :

$$A_1 = 1,85/(y_k - y_x) = 1,85/(2,332 - 2,056) = 6,703;$$

$$A_0 = 0,75 - A_1 \cdot y_k = 0,75 - 6,703 \cdot 2,332 = -14,881.$$

Натуральные значения ( $y_i$ ) преобразуются сначала в кодированные ( $y'_i$ ), а затем в баллы состояния ( $d'_i$ ):

$$\begin{aligned} y'_{11} &= A_0 + A_1 \cdot y_{11} = -0,537; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{11})) = 18 \text{ баллов}; \\ y'_{23} &= A_0 + A_1 \cdot y_{23} = 4,866; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{23})) = 99 \text{ баллов}; \\ y'_{31} &= A_0 + A_1 \cdot y_{31} = -1,100; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{31})) = 5 \text{ баллов}; \\ y'_{40} &= A_0 + A_1 \cdot y_{40} = 1,910; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{40})) = 86 \text{ баллов}; \\ y'_{10} &= A_0 + A_1 \cdot y_{10} = -0,750; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{10})) = 62 \text{ балла}. \end{aligned}$$

Для второго периода

$$y_k = 2,081 \text{ мг/г}; y_x = 1,991 \text{ мг/г},$$

$$A_1 = 1,85/(y_k - y_x) = 1,85/(2,081 - 1,991) = 20,556;$$

$$A_0 = 0,75 - A_1 \cdot y_k = 0,75 - 20,556 \cdot 2,081 = -42,026.$$

$$\begin{aligned} y'_{15} &= A_0 + A_1 \cdot y_{15} = -1,100; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{15})) = 5 \text{ баллов}; \\ y'_{27} &= A_0 + A_1 \cdot y_{27} = -0,093; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{27})) = 33 \text{ балла}; \\ y'_{38} &= A_0 + A_1 \cdot y_{38} = 1,120; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{38})) = 72 \text{ балла}; \\ y'_{49} &= A_0 + A_1 \cdot y_{49} = 6,403; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{49})) = 100 \text{ баллов}; \\ y'_{10} &= A_0 + A_1 \cdot y_{10} = 0,750; & d &= 100 \cdot \exp(-\exp(-y'_{10})) = 62 \text{ балла}. \end{aligned}$$

Аналогично производят расчет ПС по другим физиологическим параметрам. В результате вычислений каждая пробная площадь

характеризуется рядом ПС в баллах. Например, величины ПС на ПП 49 по отдельным шести характеристикам составляют 100, 26, 12, 21, 37 и 40 баллов, а ОПС древостоев (*D*) для данной ПП — 31 балл.

В ходе работы производится расчет ПС и ОПС древостоев на основании проведенных в примере данных. На основе величин морфометрических и физиологических характеристик древостоев, представленных в табл. 3.14 и 3.15, рассчитываются ПС состояния по отдельным параметрам. Расчет необходимо производить в два этапа.

Таблица 3.14

**Морфометрические параметры древостоев**

№ п/п	Направление	Расстояние от СУМЗа, км	Диаметр, см	Высота, м	Прирост за 5 лет	
					по диаметру, см	по высоте, м
1	СВ	8,5	9,6	12,28	0,87	2,11
2	СВ	12,4	8,4	10,65	0,40	2,17
3	СВ	9,7	8,5	10,90	0,64	2,2
4	СВ	12,5	8,3	12,57	0,37	1,67
5	СВ	12,3	10,0	11,47	0,49	1,59
6	ЮВ	3,1	12,2	14,51	0,43	1,45
7	СВ	4,1	6,2	6,45	0,41	1,29
8	СВ	18,0	11,7	10,94	0,83	2,39
10	С	12,4	14,4	13,01	1,00	2,67
11	СЗ	15,7	13,5	13,89	0,37	2,02
12	СЗ	12,1	11,3	13,26	0,53	2,03
13	СЗ	9,5	14,6	12,84	0,42	2,47
16	СЗ	4,2	8,7	10,07	0,41	1,45
20*	ЮЗ	18,9	17,4	13,99	0,87	2,55
21	ЮЗ	13,4	13,0	10,34	1,21	2,64

Примечание. \* — контрольная пробная площадь.

Продолжение табл. 3.14

№ п/п	На- прав- ление	Расстояние от СУМЗа, км	Диаметр, см	Высота, м	Прирост за 5 лет	
					по диа- метру, см	по высо- те, м
22	ЮЗ	13,5	13,1	14,06	0,34	2,37
23	ЮЗ	18,0	10,6	11,64	0,34	2,06
24	ЮЗ	15,0	8,5	12,05	0,52	2,22
25	ЮЗ	17,5	14,7	13,64	0,95	2,65
27	З	8,5	11,0	11,24	0,49	11,94
28	З	10,0	13,9	10,68	0,71	2,46
29	СЗ	11,2	13,3	12,51	0,45	2,21
30	СЗ	14,6	9,9	11,10	0,57	1,76
32	СВ	13,5	13,6	11,57	0,39	2,19
33	СВ	13,2	9,7	12,11	0,56	2,2
35	С	17,0	12,5	12,63	0,57	2,22
36	СВ	10,6	13,4	13,01	0,33	1,82
37	СЗ	14,5	10,8	13,31	0,60	2,44
38	СЗ	21,0	12,7	11,76	0,56	2,07
39	СЗ	14,5	11,7	11,84	1,03	2,32
40	СЗ	16,7	16,2	15,10	0,57	2,24
44	СВ	28,0	9,1	9,96	0,39	1,31
53	СВ	26,6	11,8	8,95	11,07	2,23
54	СВ	27,0	6,9	9,51	0,22	1,59
55	СВ	28,0	11,8	13,26	1,08	2,36
71	ЮЗ	15,7	11,6	13,25	0,34	1,35
72	ЮЗ	17,7	11,8	11,58	0,46	1,2
73	ЮЗ	13,4	9,7	6,28	0,68	2,28
74	ЮЗ	16,5	12,6	13,50	0,82	2,32
75	Ю	15,4	11,5	14,20	0,61	1,96

Продолжение табл. 3.14

№ п/п	На- прав- ление	Расстояние от СУМЗа, км	Диаметр, см	Высота, м	Прирост за 5 лет	
					по диа- метру, см	по высо- те, м
76	ЮЗ	13,5	10,7	10,93	0,65	1,82
77	Ю	19,9	7,0	8,21	0,49	0,87
78	Ю	18,6	13,2	12,70	0,53	1,47
80	ЮЗ	18,5	10,8	11,94	0,58	1,94
81	ЮВ	14,5	9,8	11,77	0,67	1,99
82	ЮВ	16,7	13,1	13,95	0,49	2,70
83	ЮВ	7,0	11,0	12,29	0,65	2,00
85	ЮВ	16,0	10,6	11,95	0,48	1,60
87	ЮВ	7,1	7,8	9,49	0,65	2,11
88	ЮВ	5,6	9,0	10,18	0,34	1,12
92	ЮВ	6,9	11,6	11,39	0,33	0,68
96	В	11,7	10,7	12,59	0,51	2,10
97	В	12,6	8,8	12,34	1,10	2,36
98	В	11,4	8,2	12,19	0,32	1,41
99	В	20,9	11,5	11,96	0,42	1,56
100	В	20,5	13,2	10,72	0,39	0,43
103	Ю	8,8	10,6	14,89	0,41	1,00
104	Ю	9,0	12,9	14,5	0,35	2,47
107	ЮВ	9,1	8,6	10,86	0,44	2,18
112	ЮВ	11,0	11,6	15,37	0,37	2,07
113	ЮВ	11,0	11,5	16,30	0,30	1,85
114	ЮВ	10,1	15,6	13,81	10,40	2,18
119	ЮВ	16,8	15,7	15,77	8,95	2,28
120	ЮВ	18,2	8,3	10,68	0,50	1,40
121	ЮВ	19,9	12,8	11,68	0,69	11,46

Окончание табл. 3.14

№ п/п	Направление	Расстояние от СУМЗа, км	Диаметр, см	Высота, м	Прирост за 5 лет	
					по диаметру, см	по высоте, м
122	ЮВ	21,6	9,4	10,82	0,76	2,07
126	СВ	17,2	13,2	14,60	0,51	11,72
127	СВ	14,5	11,5	10,54	0,36	0,98
129	В	17,5	10,9	12,83	0,44	1,26
130	В	17,7	12,7	11,77	0,52	1,78
131	ЮВ	17,2	11,9	13,73	0,83	2,94
132	ЮВ	20,6	14,7	12,25	0,61	2,24
135	ЮВ	20,1	13,9	14,81	0,61	1,71
136	ЮВ	15,2	14,5	14,05	0,44	4,87
137	ЮВ	19,4	13,1	10,84	0,67	2,31
138	ЮЗ	90,0	12,4	12,40	0,47	1,67
139	СВ	28,0	11,7	14,10	0,53	2,53
140	СВ	28,5	11,3	14,70	0,66	2,80

Таблица 3.15

**Физиологические характеристики древостоев пробных площадей**

№ п/п	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Квантовая эффективность, отн. ед.	Период времени, отн. ед.
1	2,140	0,734	I
2	2,946	0,723	I
3	2,056	0,727	I
4	2,505	0,717	I
5	2,627	0,682	V
6	2,084	0,669	IV
7	1,205	0,705	I
8	2,330	0,721	I

Продолжение табл. 3.15

№ п/п	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Квантовая эффективность, отн. ед.	Период времени, отн. ед.
10	2,416	0,717	I
11	2,622	0,655	V
12	2,684	0,669	V
13	2,814	0,707	I
16	2,320	0,683	I
21	2,345	0,729	I
22	2,923	0,678	V
23	2,709	0,675	V
24	1,945	0,715	I
25	2,545	0,721	I
27	2,164	0,720	I
28	2,456	0,729	I
29	2,379	0,690	I
30	2,229	0,708	I
32	2,612	0,695	I
33	1,907	0,738	I
35	1,991	0,679	II
36	2,782	0,702	I
37	2,040	0,671	II
38	2,099	0,685	II
39	2,356	0,718	II
40	2,279	0,689	II
44	1,746	0,668	III
53	1,470	0,707	II
54	1,500	0,700	II

Продолжение табл. 3.15

№ п/п	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Квантовая эффективность, отн. ед.	Период времени, отн. ед.
55	1,945	0,686	II
71	3,190	0,665	IV
73	2,690	0,670	IV
74	2,734	0,663	IV
75	2,231	0,691	IV
76	2,606	0,663	IV
77	2,289	0,652	IV
78	2,627	0,673	IV
80	2,515	0,664	IV
81	2,546	0,680	IV
82	3,077	0,655	IV
83	2,625	0,679	IV
85	2,758	0,665	IV
87	1,572	0,612	III
88	1,830	0,631	III
92	1,559	0,655	III
96	1,986	0,654	III
97	2,121	0,644	III
98	1,851	0,625	III
99	1,953	0,607	III
100	1,394	0,624	III
103	2,475	0,685	IV
104	2,469	0,676	IV
107	2,362	0,653	IV
112	3,158	0,653	IV



№ п/п	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г	Квантовая эффективность, отн. ед.	Период времени, отн. ед.
113	3,039	0,663	IV
114	2,923	0,657	IV
119	2,816	0,667	IV
120	2,949	0,654	IV
121	2,792	0,675	IV
122	2,790	0,677	IV
126	2,641	0,646	V
127	2,518	0,684	V
129	2,742	0,655	IV
130	2,789	0,664	IV
131	2,460	0,669	IV
132	2,759	0,668	V
135	2,527	0,612	V
136	2,242	0,678	V
137	2,441	0,635	V
138	2,139	0,657	V
139	2,571	0,651	V
140	2,849	0,660	V

Первый этап. Расчет ПС по отдельно взятой характеристике для 77 ПП.

Для выполнения работы необходимо рассчитать все ПС для одной из характеристик, приведенных в табл. 3.14 и 3.15: «Диаметр, см»; «Высота, м»; «Прирост за 5 лет по высоте, м»; «Прирост за 5 лет по диаметру, см»; «Хлорофилл *a*, мг/г»; «Квантовая эффективность, отн. ед.».

При выполнении расчетов необходимо обратить внимание, что из списка ПП (колонка 1 в табл. 3.14 и 3.15) исключены некоторые номера.

Для нахождения «худшего» значения рассчитываемой характеристики в табл. 3.14 необходимо в графе, предложенной инструкцией задания, найти минимальное значение признака. Эти значения для табл. 3.15 приведены в табл. 3.16.

**Второй этап.** Расчет ПС и ОПС по совокупности изучаемых характеристик. Расчет производится только для ПП, расположенных в определенных направлениях от СУМЗа (табл. 3.14, графа 2):

Первое направление — северо-восток, северо-запад, запад.

Второе направление — северо-запад, юго-запад, восток.

Третье направление — юг, восток, северо-восток.

Четвертое направление — северо-восток, север, северо-запад.

Пятое направление — юго-восток, север, юг.

Шестое направление — северо-запад, восток, юг.

*Таблица 3.16*

**Контрольные и худшие значения физиологических характеристик  
древостоев пробных площадей**

Номер ПП	Хлоро- филл $a$ , мг/г	Квантовая эффектив- ность, отн. ед.	Период вре- мени, отн. ед.	Номер ПП	Хлоро- филл $a$ , мг/г	Квантовая эффектив- ность, отн. ед.	Период вре- мени, отн. ед.
Контрольные значения				Худшие значения			
20	2,332	0,722	I		1,205	0,666	I
20	2,081	0,696	II		1,470	0,671	II
20	1,952	0,673	III		0,995	0,471	III
20	2,756	0,672	IV		1,943	0,647	IV
20	2,546	0,696	V		2,139	0,612	V

ОПС рассчитывается отдельно по совокупностям морфометрических и физиологических характеристик и по их комплексу.

В табл. 3.17 приведены номера и относительные координаты ПП.

Таблица 3.17

**Координаты пробных площадей**

№ п/п	<i>X</i>	<i>Y</i>	№ п/п	<i>X</i>	<i>Y</i>
	Относительные единицы			Относительные единицы	
1	22	28	37	15	35
2	24	32	38	17	42
3	28	24	39	12	34
4	30	26	40	13	37
5	29	27	44	45	33
6	20	18	53	44	29
7	23	21	54	45	29
8	27	36	55	46	29
10	21	33	71	9	8
11	17	36	73	12	9
12	16	33	74	13	5
13	16	30	75	16	6
16	16	24	76	15	15
20	1	12	77	15	15
21	6	17	78	15	15
22	6	16	80	8	8
23	1	14	81	26	26
24	7	10	82	25	25
25	1	18	83	26	26
27	10	21	85	29	29
28	8	23	87	24	24
29	8	26	88	24	24
30	6	28	92	25	25
32	5	33	96	30	30
33	27	31	97	31	31
35	22	39	98	30	30

Окончание табл. 3.17

№ п/п	<i>X</i>	<i>Y</i>	№ п/п	<i>X</i>	<i>Y</i>
	Относительные единицы			Относительные единицы	
99	40	40	127	33	33
100	39	39	129	36	36
103	20	20	130	36	36
104	20	20	131	35	35
107	21	21	132	38	38
112	24	24	135	35	35
113	23	23	136	31	31
114	22	22	137	33	33
119	29	29	138	1	1
120	28	28	139	31	31
121	28	28	140	31	31
122	27	27	СУМЗ	18	18

На листе необходимо нанести местоположение пробных площадей и СУМЗа (Среднеуральский медеплавильный завод). Рядом с точками, указывающими на расположение пробных площадей, подписать разными цветами значения ОПС (25 баллов и ниже — красный цвет, 26–35 — желтый, 36–45 — зеленый и свыше 45 баллов — синий). Для наглядности необходимо на карту-схему нанести зоны с разным состоянием древостоев (очень плохое, плохое, удовлетворительное, хорошее). При проведении изолиний между разными зонами используется метод интерполяции — нахождения промежуточных значений величин ОПС между пробными площадями. Для построения зон состояния необходимо попарно соединить между собой виртуальными отрезками нанесенные на карту-схему ПП, на полученных отрезках найти местоположение точек с величинами ОПС, равными границам зон с различным состоянием (25, 35 и 45 баллов). Для того чтобы найти эти величины, виртуальные отрезки делятся пополам до тех пор, пока на них не будут получены значения ОПС 25 или 35 и 45 баллов. При построении зон

с разным состоянием все расчеты выполняются на основе величин ОПС, указанных в скобках на карте-схеме. После того как все промежуточные точки найдены, проводятся изолинии путем соединения между собой всех одинаковых точек. Следует иметь в виду, что по одну сторону должны оставаться значения ОПС большие, а по другую — меньшие. Изолиниями территория разбивается на зоны с разным состоянием древостоев. Ввиду монотонности шкалы состояния разрывы в последовательности зон не допускаются. Например, между зонами с плохим и хорошим состоянием лесов обязательно выделяется зона с удовлетворительным состоянием.

На каждом из указанных направлений на карте-схеме необходимо выбрать не менее четырех точек. В их число входят наиболее удаленная от СУМЗа ПП, самая близкая к заводу ПП и две ПП, находящиеся приблизительно на одной прямой с первыми двумя. При этом ПП должны принадлежать к зонам с разным состоянием древостоев.

Для нахождения зависимостей между значениями ОПС, рассчитанными по совокупности морфометрических, физиологических и всего комплекса характеристик древостоев, и удалением от источника выбросов (СУМЗ) по каждому направлению необходимо построить графики. По оси  $y$  откладываются величины ОПС в баллах, по оси  $x$  — расстояние от СУМЗа (см. табл. 3.14, графа 3). Кривые строятся по четырем выбранным точкам.

Анализ полученных графиков должен включать в себя следующие этапы:

1. Необходимо оценить и описать изменение состояния древостоев (тренд) в зависимости от удаления от источника выбросов (СУМЗа):

- по морфометрическим параметрам (кривая 1);
- по физиологическим параметрам (кривая 2);
- по комплексу характеристик (кривая 3).

2. На основании полученных данных и рельефа местности необходимо оценить и описать влияние дополнительных факторов на состояние древостоев. Состояние, как правило, улучшается по мере удаления от СУМЗа. Если этого не происходит, то возможно влияние дополнительных факторов. К дополнительным факторам

относятся особенности рельефа, роза ветров, населенные пункты, транспортная сеть, пожары, вспышки энтомовредителей.

Используя карту-схему местности, нужно сформулировать предположение о наличии дополнительного фактора (или факторов), влияющего на состояние древостоев в спорных (не вписывающихся в общий тренд) точках. При этом следует учесть возможность действия на древостои других дополнительных факторов.

3. Провести сравнительный анализ трех оценок состояния (кривые 1, 2 и 3). Указать наиболее чувствительную из них, т. е. показывающую наибольшую величину изменений ОПС. Обосновать необходимость использования комплекса морфологических и физиологических характеристик при оценке состояния древостоев.

**Представление результатов.** Каждая бригада оформляет отчет на основе выполненных заданий. Отчет выполняется с помощью MS Word и MS Excel, кегль 14, интервал полуторный. Структура отчета:

- титульный лист;
- краткое описание целей и задач работы;
- краткое описание метода;
- расчеты в виде табл. 3.18 и 3.19;

Таблица 3.18

**Расчет показателей состояния по...**  
(указать название характеристики)

№ п/п	Название характеристики (для каждой бригады своя) из табл. 3.14 и 3.15	Кодированное значение признака $y'_i$ (округлять до третьего знака после запятой)	Показатель состояния по данной характеристике, баллов (округлять до целого числа)

Расчет обобщенных показателей состояния

На- прав- ление	№ проб- ной пло- щади	Показатели состояния, баллов				ОПСм, баллов	ОПСФ, баллов	ОПС об., баллов
		по приросту за 5 лет		Содержание хлорофилла «а» в хвое	Квантовая эффектив- ность, баллов			
		диаметр	высота					

- ОПСм — по комплексу морфометрических показателей;
- ОПСф — по комплексу физиологических показателей;
- ОПСоб. — по совокупности морфометрических и физиологических показателей;
- карта-схема на листе миллиметровой бумаги формата А3;
- графики зависимостей ОПС от расстояния до СУМЗа на отдельных листах;
- выводы, сделанные на основании анализа карты, графиков, а также общий вывод по работе.

### 3.3. ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА МЕТОДОМ БИОИНДИКАЦИИ

Под влиянием ухудшения качества атмосферного воздуха у растений отмечаются различные изменения: необычная окраска листы, опадение листы, изменение формы роста, плотности популяции, ареала вида и т. д. Растения очень чутко реагируют на загрязнение окружающей среды, что позволяет использовать их при мониторинге в качестве индикаторов.

В настоящее время накоплен большой положительный опыт в использовании методов биоиндикации. Экспресс-методы широко

применяются для оценки состояния окружающей среды как в природных, так и в нарушенных экосистемах.

## Работа 1

### **Оценка состояния атмосферного воздуха методом биоиндикации с использованием хвои сосны обыкновенной**

**Цель работы** — оценить зависимость степени повреждения хвои (некрозы, усыхание) от степени загрязнения воздуха в разных районах произрастания сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.).

В большинстве городских районов преобладают антропогенные источники загрязнения воздуха, образующиеся при сгорании ископаемых видов топлива, в состав которого входит сера (тепловые электростанции, мусоросжигательные заводы, коммунальные котельные, металлургическая промышленность). Кроме того, при работе дизельных двигателей внутреннего сгорания в выхлопных газах содержатся такие вредные вещества, как соединения свинца, оксиды азота, а также диоксид серы. Особенно опасен диоксид серы. Устойчивость растений к диоксиду серы различна. Из высших растений повышенную чувствительность к этому газу имеют представители семейства хвойных, такие как ель обыкновенная (*Picea abies* (L.) Karst.), сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), сосна сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour) и др. Хвойные удобны тем, что могут служить биоиндикаторами круглогодично. Чаще всего в качестве биоиндикатора выбирают сосну обыкновенную, поскольку вид чувствителен к загрязнению воздуха и произрастает повсеместно.

#### **Ход работы.**

1. Для анализа выбирают участки сосновых насаждений, располагающиеся по градиенту загрязнения от источника выбросов в атмосферу в импактной, буферной и фоновой (контроль) зонах.

На открытом месте подбирают не менее 10 молодых сосен (возраст 10–15 лет), отстоящих друг от друга на 20–25 м. Хвою



отбирают с побегов 2- или 3-летнего возраста с южной стороны дерева (каждый прирост — год жизни дерева).

Для получения достоверных результатов бурят по 20–30 хвоинок с каждого дерева, т. е. 200–300 хвоинок.

2. В камеральных условиях собранный материал анализируется. Хвою раскладывают на пять групп по видам повреждения и усыхания. Все хвоинки делятся на группы в соответствии с классами усыхания и повреждения: КП — класс повреждения (некрозы); КУ — класс усыхания хвои [Экологический мониторинг]. При оценке степени повреждения хвои более светлая окраска самого кончика хвоинки не учитывается (рис. 3.12).

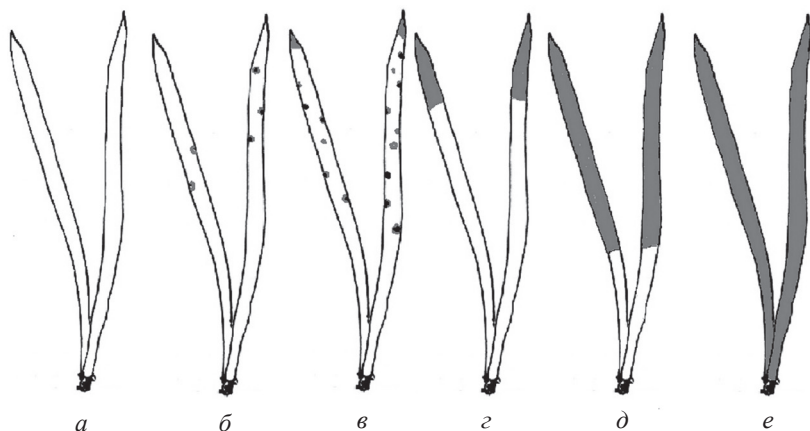


Рис. 3.12. Виды повреждения и усыхания хвои:

*а* — хвоя без пятен (КП-1), нет сухих участков (КУ-1); *б* — хвоя с небольшим числом мелких пятен (КП-2), нет сухих участков (КУ-1); *в* — хвоя с большим числом черных и желтых пятен (КП-3), усох кончик 2–5 мм (КУ-2); *г* — усохла треть хвои (КУ-3); *д* — усохло более половины длины хвои (КУ-4); *е* — вся хвоя желтая и сухая (КУ-4)

Проводят подсчет количества хвои в каждой группе, определяют долю групп по видам повреждения и усыхания, полученные данные заносят в табл. 3.20.

**Определение качества воздуха  
по классам повреждений и усыхания хвои**

Виды повреждений и усыхания хвои	Класс повреждений (некрозы)	Класс усыхания	Доля хвоинок по видам повреждений	Качество воздуха	Примечания
<i>a</i>	КП-1	КУ-1		I	
<i>б</i>	КП-2	КУ-1		II	
<i>в</i>	КП-3	КУ-2		III	
<i>г</i>		КУ-3		IV	
<i>д</i>		КУ-4		V	
<i>е</i>		КУ-4		VI	

*Примечание.* I — воздух идеально чистый, II — чистый, III — относительно чистый («норма»), IV — заметно загрязненный («тревога»), V — грязный («опасно»), VI — очень грязный («вредно»).

**Представление результатов.** Отчет с перечнем всех типов повреждений хвои, расчеты и таблицы. По результатам всех измерений дают экспресс-оценку качества воздуха на территории исследуемого участка. Полученные результаты из районов загрязнения сравнивают с данными контрольного участка.

## Работа 2

### **Экспресс-оценка качества среды по флуктуирующей асимметрии листовой пластинки древесных и травянистых растений**

Для оценки качества среды по флуктуирующей асимметрии листовой пластинки могут использоваться только те виды растений, которые имеют четко выраженную двустороннюю симметрию, что является главным требованием при использовании данного метода. Наиболее удобными для целей биоиндикации являются следующие

виды растений: *травянистые* — сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria* L.), мать-и-мачеха обыкновенная (*Tussilago farfara* L.); *древесные* — береза бородавчатая (*Betula pendula* Roth), тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.), клены остролистный (*Acer platanoides* L.) и ясенелистный (*A. negundo* L.). Все перечисленные виды имеют четко выраженную двустороннюю симметрию. Кроме указанных растений часто для отслеживания стабильности развития используют подорожник большой (*Plantago maior* L.), землянику лесную (*Fragaria vesca* L.), манжетку обыкновенную (*Alchemilla vulgaris* L.), клевер гибридный (*Amoria hybrida* (L.) C. Presl), клевер ползучий (*Amoria repens* (L.) C. Presl) и некоторые другие растения.

Береза бородавчатая и близкий к ней вид береза пушистая (*Betula pubescens* Ehrh.) способны скрещиваться между собой, образуя межвидовые гибриды, которые обладают признаками обоих видов. Во избежание ошибок следует выбирать деревья с четко выраженными признаками одного вида.

**Цель работы** — оценить загрязнения воздушной среды по флуктуирующей асимметрии листовой пластинки березы повислой. Метод основан на выявлении нарушений симметрии развития листовой пластины древесных и травянистых форм растений под действием антропогенных факторов.

**Ход работы.** Сбор материала необходимо проводить после завершения интенсивного роста листьев, в условиях Урала с конца мая — начала июня и до их опадания осенью. Выборки должны производиться с растений, находящихся в сходных экологических условиях по уровню освещенности, влажности и т. д.

Листья березы повислой собирают с 4–5 близко растущих средневозрастных деревьев из нижней части кроны, на уровне поднятой руки, с максимального количества доступных веток, по 25–50 листьев среднего размера с укороченных побегов с каждого дерева. Выборка составляет 100–200 листьев с участка.

Каждый отобранный лист измеряется по следующим параметрам (рис. 3.13):

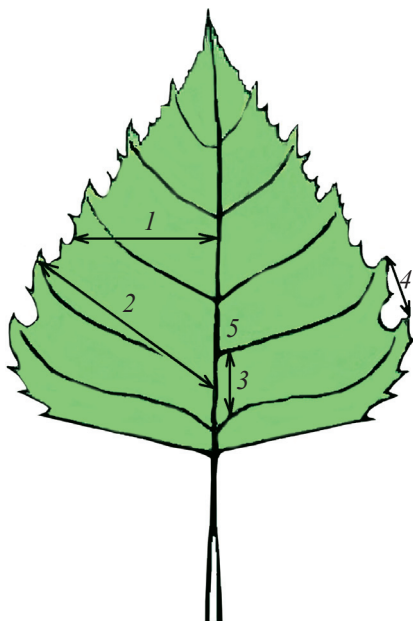


Рис. 3.13. Схема промеров листьев для детального расчета:

1 — ширина половинки листа; 2 — длина второй жилки от основания листа; 3 — расстояние между основаниями первой и второй жилок; 4 — расстояние между концами этих жилок; 5 — угол между главной и второй от основания жилками

- 1) ширина половинки листа, см;
- 2) длина второй жилки от основания листа, см;
- 3) расстояние между основаниями первой жилки и второй, см;
- 4) расстояние между концами этих жилок, см;
- 5) угол между главной жилкой и второй от основания, град.

Жилки измеряются курвиметром или линейкой с точностью до 1 мм. Интерес представляют не размеры жилок, а разница их длины справа и слева. Данные измерений заносят в табл. 3.21.

Величину флуктуирующей асимметрии оценивают с помощью интегрального показателя — величины среднего относительного различия по признакам (среднее арифметическое отношение разности к сумме промеров листа справа и слева, отнесенное к числу признаков).

## Результаты измерений листьев

Дата:			Исполнитель:							
Вид: Betula pendula			Место сбора:							
№	Ширина половинок		Длина 2-й жилки		Расстояние между основаниями 1-й и 2-й жилок		Расстояние между концами 1-й и 2-й жилок		Угол между центральной и 2-й жилками	
	л	пр	л	пр	л	пр	л	пр	л	пр

Примечание. Л — левая сторона, пр — правая.

Коэффициент флуктуирующей асимметрии определяют по алгоритму, предложенному В. М. Захаровым и др. [Захаров].

**Первый этап.** Для каждого промеренного листа вычисляют *относительные величины асимметрии*  $Y$  для каждого признака. Для этого разность между промерами слева  $X_{\text{л}}$  и справа  $X_{\text{пр}}$  делят на сумму этих же промеров. Формула для расчетов:

$$Y = \frac{X_{\text{л}} - X_{\text{пр}}}{X_{\text{л}} + X_{\text{пр}}}.$$

**Второй этап.** Вычисляют *показатель асимметрии*  $Z$  для каждого листа. Для этого суммируют значения относительных величин асимметрии  $Y$  по каждому признаку и делят на число признаков  $N$ . Формула для расчетов:

$$Z = \frac{Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4 + Y_5}{N}.$$

**Третий этап.** Вычисляют *интегральный показатель стабильности развития* (коэффициент флуктуирующей асимметрии,  $\bar{X}$ ), это величина среднего относительного различия между сторонами листьев в выборке. Для этого находят среднюю арифметическую всех величин асимметрии  $Z$ . Формула для расчетов:

$$\bar{X} = \frac{Z_1 + Z_2 + \dots + Z_n}{n}.$$

При оценке результатов используется таблица соответствия баллов качества среды значениям коэффициентов флуктуирующей асимметрии, предложенная А. М. Степановым [Степанов] (табл. 3.22).

Таблица 3.22

**Балльная система качества среды обитания живых организмов по показателям флуктуирующей асимметрии высших растений**

Вид растения	Балл				
	1	2	3	4	5
Береза бородавчатая	<0,055	0,056–0,060	0,061–0,065	0,065–0,070	>0,070
Все виды растений	<0,0018	0,0019–0,0089	0,0090–0,022	0,022–0,04	>0,04

*Примечание.* Баллы соответствуют следующим характеристикам среды обитания живых организмов: 1 — чисто; 2 — относительно чисто («норма»); 3 — загрязнено («тревога»); 4 — грязно («опасно»); 5 — очень грязно («вредно»).

**Представление результатов.** По результатам всех измерений проводится экспресс-оценка загрязнения окружающей среды. Делается вывод о качестве среды обитания в исследуемом районе.

### 3.4. МЕТОДЫ РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ

Естественный радиационный фон существовал и существует на планете везде и всегда. Его основные источники — космические лучи и излучения радиоизотопов Земли. Космические излучения формируются в недрах Галактики при взрывах новых и сверхновых звезд, генерируются «черными дырами», входят в состав солнечного излучения. Радионуклиды (радиоизотопы) — это элементы, ядра которых самопроизвольно распадаются, превращаясь в ядра дочерних элементов и испуская ионизирующие излучения. Имеется

около 50 естественных радиоизотопов и более 300 искусственных, полученных в ходе деятельности человека. Физическая природа излучений различна (альфа-лучи — это ядра атомов гелия, бета-лучи — поток электронов или позитронов, гамма-лучи — электромагнитное излучение с очень малой длиной волны). Однако их объединяет, во-первых, происхождение (все излучения — результат радиоактивного распада радионуклидов); во-вторых, способность ионизировать среду. Проходя через любое вещество, эти излучения оставляют ионизированные и возбужденные атомы и молекулы.

Закон радиоактивного распада гласит: независимо от типа ядерной реакции (альфа- или бета-распады,  $K$ -захват) половина числа наличных атомных ядер данного изотопа, каково бы это число ни было, распадается всегда за одно и то же время  $T$ , называемое периодом полураспада и характерное для данного радионуклида;  $T$  у разных радиоизотопов может быть от долей секунды до миллиардов лет. Скорость распада определяется только строением ядра и не может быть изменена никакими физическими или химическими способами.

Важными задачами радиоэкологии являются оценка количества радионуклидов (радиоактивность) и расчет мощности дозы ионизирующего излучения, которое возникает при распаде. Единицы измерения радиоактивности и доз ионизирующего излучения приведены в табл. 3.23.

Таблица 3.23

**Единицы измерения радиоактивности  
и доз ионизирующих излучений**

Измеряемая величина	Внесистемная единица	Система СИ	Связь между единицами
Радиоактивность	Кюри (Ки)	Беккерель (Бк) = = 1 расп/с	1 Ки = $3,7 \cdot 10^{10}$ Бк
			1 Бк = $2,7 \cdot 10^{-11}$ Ки
Экспозиционная доза	Рентген (Р)	Кулон/кг	1 Р = $2,58 \cdot 10^{-4}$ Кл/кг
			1 Кл/кг = $3,88 \cdot 10^3$ Р
Поглощенная доза	Рад (рад)	Грей (Гр)	1 Гр = 100 рад

Измеряемая величина	Внесистемная единица	Система СИ	Связь между единицами
Эквивалентная доза	Бэр (бэр)	Зиверт (Зв) = = Гр/ $K_{обз}$	1 Зв = 100 бэр

*Примечание.*  $K_{обз}$  — коэффициент относительной биологической эффективности. Показывает, во сколько раз излучение разных типов более эффективно (опасно) по сравнению с гамма-лучами. Для бета-лучей и позитронов  $K_{обз} = 1$ , для протонов и быстрых нейтронов — 10, а для альфа-лучей — 20.

Экспозиционная доза характеризует источник излучения, поглощенная доза — это часть экспозиционной дозы, которая поглощается в веществе. Для биологических тканей поглощение составляет  $\approx 96\%$ . Эквивалентная доза позволяет сравнивать между собой эффективность действия разных типов излучения (альфа-частиц, бета-лучей, нейтронов), эффективность гамма-лучей принята за единицу [Старков, Мигунов].

## Работа 1

### Методы регистрации радиоактивности и ионизирующих излучений

**Цель работы** — ознакомиться с методами и приборами количественного определения радионуклидов и регистрации ионизирующих излучений. Определить единицы измерения количества радионуклидов и дозы излучений (внесистемные и в системе СИ), измерить мощности экспозиционной дозы (МЭД). Провести пешеходную гамма-съемку с помощью дозиметра ДРГ-01Т1, используя карту-схему местности. Изучить вариабельность радиационного фона в зависимости от особенностей местности, наличия снегового покрова. Оценить экранирующий эффект зданий, построенных из разных материалов.

**Содержание работы.** Современные методы измерения радиоактивности основаны на анализе спектров испускаемых



радионуклидами излучений. Методы делят на ионизационные и сцинтилляционные. Первые фиксируют ионизации атомов и молекул вещества при взаимодействии его с ионизирующими излучениями, вторые — возникновение в детекторе при прохождении излучения вспышек света (сцинтилляций). Последнее поколение спектрометров имеет полупроводниковые детекторы [Жуковский].

Каждому радионуклиду, испускающему гамма-кванты, присущ особый спектр с максимумами в определенных энергетических интервалах. Анализируя энергетические спектры, можно выделить определенный элемент из смеси других радионуклидов и оценить его активность. Примером спектрометрического прибора может служить комплекс ППД «Прогресс-гамма» (рис. 3.14).

Гамма-спектрометрические приборы позволяют количественно анализировать только гамма-излучающие элементы, причем для некоторых излучателей спектры перекрываются. В этих случаях перед спектрометрией проводят химическую очистку проб от примесей.

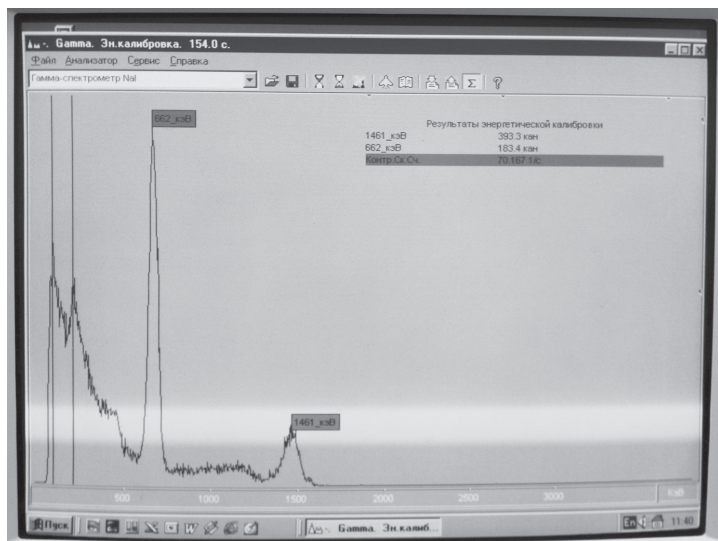


Рис. 3.14. На экране монитора комплекса ППД «Прогресс-гамма» виден высокий пик искусственного радионуклида  $^{137}\text{Cs}$  и малый пик естественного радионуклида  $^{40}\text{K}$

Для определения альфа- и бета-излучателей существуют другие радиохимические методы и спектрометрические приборы. Например, содержание  $^{90}\text{Sr}$  в пробах определяют радиохимически, выделяя дочерний изотоп  $^{90}\text{Y}$ , радиометрию которого проводят на установке УМФ-2000.

В полевых условиях, как правило, не ставится задача качественного и количественного определения радионуклидов, важнее оценить внешний радиационный фон или мощность экспозиционной дозы (МЭД). Для этого служат портативные приборы — дозиметры (радиометры).

*Дозиметр ДРГ-01Т* — малогабаритный, моноблочный прибор, предназначен для измерения МЭД как от естественных, так и от искусственных радионуклидов. Этот прибор применяется работниками службы радиационной безопасности, работает при температурах среды от  $-10$  до  $+40$  °С. Измерение дозы осуществляется с помощью газоразрядных счетчиков. Под воздействием гамма-квантов в них генерируются импульсы тока, которые усиливаются, преобразуются в импульсы напряжения, а затем в единицы мощности дозы (мкР/ч или Р/ч). Информация накапливается в течение 20 с, затем поступает на жидкокристаллический индикатор.

### ***Ход работы.***

**Первый этап.** Проверить готовность прибора ДРГ-01Т к работе. При необходимости заменить батарейки. Установить нужный режим работы — «Измер.» и диапазон измерений — «мкР/ч».

**Второй этап.** Подготовить таблицу, в которую будут заноситься результаты измерений (табл. 3.24).

**Третий этап.** Проложить по карте-схеме маршрут пешеходной гамма-съемки с указанием точек, в которых необходимо сделать замеры. При выборе точек обращать внимание на наличие ям, траншей, глубоких сугробов снега (если работа выполняется в зимнее время). Измерить МЭД на открытой местности в 5–7 точках, нанесенных на карту-схему (по пять повторностей в каждой точке). Блок детектирования держать на высоте 20 см от поверхности земли. Если работа выполняется зимой и есть мощный снеговой покров, провести несколько измерений в сугробах. Известно, что

снеговой покров может экранировать излучения от поверхности земли. В дальнейшем результаты усредняются и определяется ошибка измерения.

Таблица 3.24

**Мощность экспозиционной дозы (МЭД), мкР/ч**

Место измерения	№	Показатель
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	

Четвертый этап. Сделать замеры МЭД в деревянном доме (не менее пяти измерений на точку). Сделать замеры МЭД в доме из бетонных плит. Известно, что некоторые стройматериалы включают граниты с повышенным содержанием естественных радионуклидов, что может повышать МЭД в помещениях [Радиационная обстановка...].

**Представление результатов.** Все результаты заносятся в подготовленную заранее таблицу. Выполняется сравнение показателей в зависимости от места измерения с использованием критерия множественных сравнений Шеффе или непараметрических критериев Краскела — Уоллиса (H) и Манна — Уитни (U) в программе STATISTICA 8.0. На основании полученных результатов делаются выводы о варьировании естественного радиационного фона в зависимости от особенностей местности и наличия снегового покрова (если имеется) и о колебаниях МЭД в помещениях разного типа и на открытом пространстве.

## Работа 2

### Биологическое действие больших доз радиации

Действие радиации на живые клетки было изучено еще в начале XX столетия, тогда же было сформулировано важнейшее эмпирическое правило Бергонье и Трибондо, которое гласит, что «радиация тем сильнее повреждает живые клетки, чем интенсивнее они делятся и чем менее дифференцированы». Дальнейшие исследования выявили разные механизмы, ведущие к гибели клеток; а) гибель клеток в процессе деления, б) интерфазная гибель высокоспециализированных клеток по типу воспаления, в) апоптоз. Первый тип гибели характерен для наиболее радиочувствительных делящихся клеток; их гибель наступает при дозах на порядок величин меньших, чем гибель интерфазных клеток. Апоптоз — программируемая клеточная смерть, регулируемый процесс самоликвидации клеток. В норме апоптоз поддерживает клеточный гомеостаз, обеспечивает обновление тканей и формообразование. Второй важной функцией апоптоза является уничтожение дефектных (поврежденных, мутантных) клеток, поэтому апоптоз усиливается в облученных организмах, способствуя их восстановлению.

Растительный организм состоит из разных органов, чем больше в тканях делящихся клеток, тем чувствительнее они к облучению. Повреждение меристем фактически определяет судьбу облученного организма. В ходе выполнения работы студенты могут наблюдать поражение корневой и апикальной меристемы у проростков, появление радиоморфозов (изменение цвета и формы разных органов), пострадиационное восстановление корней.

**Цель работы** — освоить методику культивирования облученных и необлученных семян растений в рулонной культуре, оценить радиационный эффект с помощью метода корневого теста, зафиксировать аномалии в развитии проростков в зависимости от дозы облучения.

#### ***Ход работы.***

**Первый этап.** Материал для данной лабораторной работы готовится заранее. За три недели до эксперимента семена

какого-либо растения (лопух, кострец, щавель или другой вид) облучают на источнике гамма-квантов  $^{60}\text{Co}$  типа «Исследователь» в дозах от 5 до 300 Гр<sup>1</sup>.

Студенты высевают облученные и необлученные семена (четыре повторности на вариант, в каждой по 25 семян) на длинные увлажненные полоски фильтровальной бумаги (ширина полос 5 см, длина 70 см), сверху закрывают полосками кальки и сворачивают в рулон. Рулоны опускают одним концом в сосуд с дистиллированной водой. Культивирование проводят 21 день при температуре 24 °С и искусственном 12-часовом освещении.

Второй этап. Через три недели студентам предлагается разобрать лабораторный опыт, занося результаты в подготовленные заранее таблицы (табл. 3.25).

Таблица 3.25

**Результаты эксперимента по оценке радиационного эффекта у растений**

Вариант	№	Длина корня, мм	Не- кроз	Изме- нение цвета	Изме- нение формы	Наруше- ния гео/ гелиотро- пизма	Другие наруше- ния	Наличие боковых корней

По доле живых проростков от числа посеянных семян определяют выживаемость; как правило, в вариантах с облучением выживаемость меньше. В рулонной культуре удобно оценить длину корней каждого проростка (рис. 3.15).

<sup>1</sup> Эту работу выполняют сотрудники лаборатории, имеющие допуск к работе на гамма-установках.

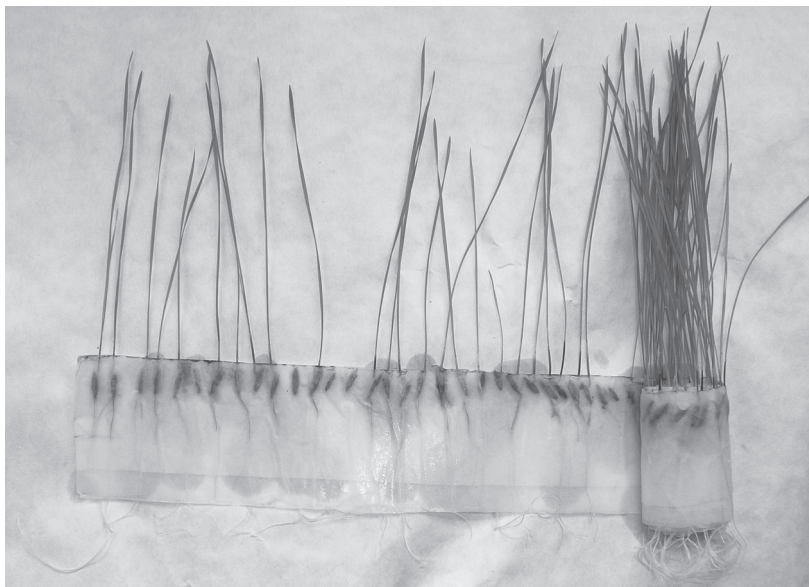


Рис. 3.15. В рулонной культуре проростки костреца беззостого

Общепринятым показателем интенсивности роста является корневой тест, который рассчитывают по формуле

$$K = \frac{L_{\text{обл}}}{L_{\text{контр}}},$$

где  $L_{\text{обл}}$  — длина корня облученных проростков (усредненные на вариант данные);  $L_{\text{контр}}$  — длина корня контрольных проростков (усредненные данные).

Учитывается доля проростков с некрозами и радиоморфозами, т. е. с нарушениями развития разных органов. Существует много разновидностей терат, наиболее часто встречаются хлорофильные мутации, нарушения формы семядолей и листьев, изменения цвета и формы корней. Лишь для небольшого числа нарушений известна генетическая природа (наследуемая мутация или соматическое изменение). Однако мутабельность видов можно оценить, анализируя качественный спектр радиоморфозов без облучения и после него, а также долю проростков с нарушениями.

Эксперимент позволяет наблюдать процессы восстановления у облученных проростков. Чаще всего восстановительные процессы происходят в корневой меристеме; выше зоны некроза кончика корня начинают формироваться боковые корешки, способные обеспечить дальнейшее развитие проростков (рис. 3.16).

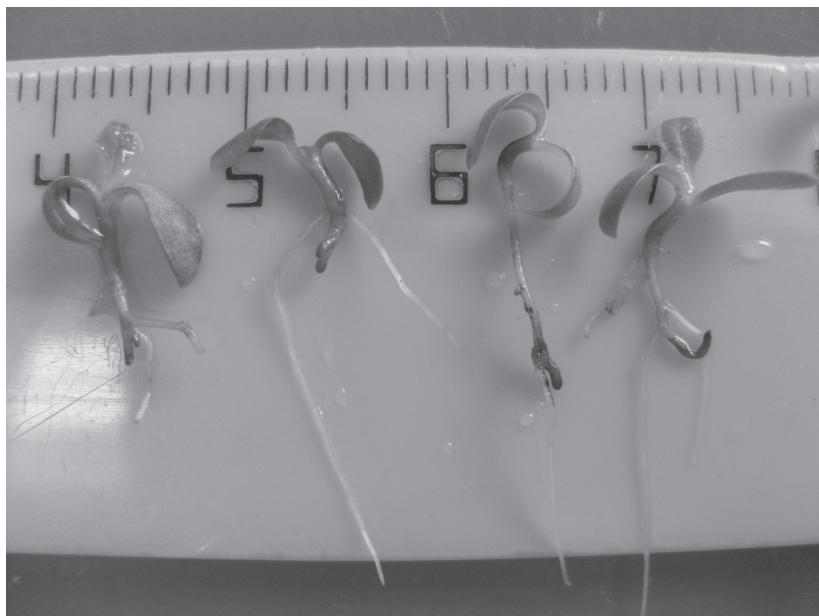


Рис. 3.16. Проростки бодяка щетинистого после облучения

Показано формирование корешков выше зоны некроза основного корня.

**Представление результатов.** Проводится статистическая обработка результатов с использованием дисперсионного анализа, критерия множественных сравнений Шеффе, непараметрических критериев Краскела — Уоллиса ( $H$ ) и Манна — Уитни ( $U$ ) в программе STATISTICA 8.0. На основании полученных данных строятся графики (рис. 3.17).

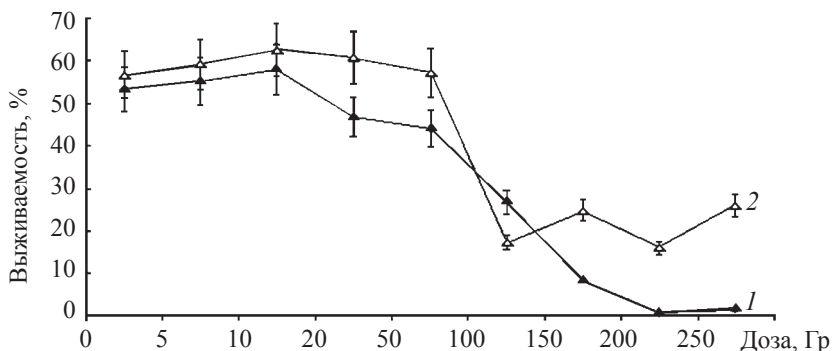


Рис. 3.17. Зависимость выживаемости проростков подорожника среднего из двух ценопопуляций: фоновая выборка (1) и зона Восточно-Уральского радиоактивного следа (2) от облучения в широком диапазоне доз

Делаются выводы о влиянии облучения на выживаемость проростков, о ростовых процессах у облученных растений (по результатам корневого теста), о мутабельности вида, т. е. о доле проростков с морфозами без облучения и после него.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Что такое радиоактивность, в каких единицах она измеряется?
2. Сформулируйте основной закон радиоактивного распада.
3. Что такое ионизирующие излучения?
4. Дайте характеристику основных видов ионизирующих излучений.
5. В чем отличия экспозиционной, поглощенной и эффективной дозы?
6. В каких единицах измеряются дозы ионизирующих излучений?
7. Перечислите составляющие естественного радиационного фона Земли.
8. В чем различие реакций на облучение делящихся клеток и интерфазных?



9. Сформулируйте эмпирическое правило Бергонье и Трибондо.
10. Какие механизмы лежат в основе гибели клеток в процессе деления?
11. Что такое интерфазная гибель клеток, при каких дозах она проявляется?
12. Как определяется корневой тест?
13. Какие ткани в живых организмах наиболее чувствительны к облучению?
14. Что такое радиоморфозы?

### 3.5. ОЦЕНКА УСЛОВИЙ МЕСТООБИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ

Растительные популяции и сообщества, образующие растительность, тесно связаны с внешней средой, что отражается прежде всего во флористическом составе и обилии видов. Для оценки условий произрастания могут использоваться как признаки отдельных популяций растений, так и состав растительных сообществ в целом, позволяющий определять экологические свойства экотопа и отношение видов к факторам среды.

#### Работа 1

#### **Использование флористического состава для оценки экологических свойств экотопа и состояния растительных сообществ**

Изучение любого растительного сообщества и растительного покрова в целом начинается с выявления видового разнообразия и сравнения по видовому составу разных сообществ. Полный флористический список должен включать не только семенные растения, но и все споровые; учитывать взрослые растения и всходы, как вегетирующие растения, так и покоящиеся, находящиеся в виде

луковиц, корневищ и семян в почве. Полнота выявления флористического состава важна при любых геоботанических исследованиях, в том числе и при фитоиндикации. Однако из-за сложности методов определения многих групп споровых растений и грибов, участвующих в сложении сообществ, при анализе флористического состава ограничиваются преимущественно высшими растениями и лишайниками.

Для оценки состояния растительного сообщества используют разные показатели: видовое богатство и видовую насыщенность, а также выравненность. *Флористическое (видовое) богатство* — это количество видов, входящих в состав данного сообщества (или данной ассоциации). Количество видов сосудистых растений, входящих в состав фитоценозов, сильно варьирует, однако чем благоприятнее условия, тем больше видов может включать сообщество, в условиях стресса видовое разнообразие уменьшается. Площадь выявления флористического богатства определяется как наименьшая площадь, на которой видовая насыщенность становится равной флористическому богатству фитоценоза. Наименьшая площадь учета, на которой встречаются почти все виды сообщества, называется площадью выявления флористического богатства или «минимальным ареалом». *Видовой насыщенностью* называют количество видов на единицу площади — обычно на 100 или на 1 м<sup>2</sup>. *Выравненность* — это равномерность распределения видов по обилию в сообществе. Выравненность максимальная, если все виды в сообществе имеют равное обилие. В растительном сообществе такая ситуация крайне редка. Кроме показателей видового разнообразия важным параметром является *количественное участие* отдельных видов в составе сообществ. Оценки участия видов (значимости) могут быть проведены по проективному покрытию, встречаемости, жизненности, запасу фитомассы и выражаться в баллах, процентах и показателях массы.

Функцией видового состава являются индексы разнообразия, которые позволяют проводить количественную оценку состояния растительного покрова и его изменений. Идея введения индексов состоит в том, чтобы охарактеризовать существенно многокомпонентную величину — видовую структуру сообщества — одним числом для того, чтобы иметь возможность сравнивать эти величины

между собой [Левич]. Для оценки альфа-разнообразия используются разнообразные индексы: Шеннона, Симпсона и др. Индексы могут использоваться и для оценки степени антропогенной деградации сообществ — апофиты, различные группы антропофитов, в том числе инвазионные виды, могут характеризовать степень его нарушенности. Для оценки состояния растительного покрова лугов П. Л. Горчаковским [Горчаковский] был предложен индекс синантропизации, определяемый по доле участия синантропных видов в процентах от общего видового состава или по доле надземной фитомассы, образованной синантропными растениями в процентах к ее общему запасу.

В современных геоботанических и экологических исследованиях широко используется диагностика экологических параметров местообитаний (фитоиндикация) по произрастающим на нем видам растений, т. е. также используются флористический состав и обилие видов. Для каждого вида растений характерен определенный диапазон значений экологических факторов (экологическая амплитуда), при которых возможно существование его ценопопуляций. Эвритопные виды имеют широкую амплитуду, стенофитные — узкую. Одним из методов фитоиндикации является использование индикаторных экологических шкал. Существуют разные шкалы: амплитудные Л. Г. Раменского и др. [Раменский и др.] и Д. Н. Цыганова [Цыганов], точечные Г. Элленберга [Ellenberg et al.] и др.

Под руководством Л. Г. Раменского для кормовых угодий были разработаны экологические шкалы для пяти ведущих факторов среды: увлажнения, богатства и засоленности почвы, пастбищной дигрессии, переменности увлажнения и аллювиальности. Шкалы Д. Н. Цыганова чаще используются для лесных сообществ.

Шкалы приведены в экологических таблицах, представляющих собой алфавитный список растений с указанием амплитуды ступеней шкалы, «в пределах которой данное растение может встречаться в определенном обилии в природных травостоях» [Раменский и др.].

**Цель работы** — дать оценку условий местообитания, используя геоботанические описания растительного покрова, нарушенного и контрольного участков.

**Методика работы.** Методика оценки условий местообитания по таблицам заключается в определении ступени, характерной для большинства видов изучаемого сообщества. Во флористическом списке геоботанического описания против каждого вида растений проставляются (из таблиц) ограничительные ступени фактора, соответствующие обилию данного вида (*m*, *c*, *n*, *r*, *s*). По шкале проективных обилий: *m* — массовое, более 8 %; *c* — обильное, 2,5–8 %; *n* — умеренное, 0,3–2,5 %; *r* — малое; *s* — единичное, 0,1–0,2 %.

*Шкала увлажнения «У» состоит из 120 ступеней:*

1–17	Пустынное увлажнение
18–30	Полупустынное (пустынно-степное)
31–39	Сухостепное
40–46	Среднестепное
47–52	Луговостепное (влажностепное)
53–63	Сухолуговое (и свежелуговое)
64–74	Влажнолуговое
77–88	Сыролуговое
89–93	Болотно-луговое
94–103	Болотное
104–109	Местообитания прибрежно-водной растительности
110–120	Местообитания водной растительности

*Шкала богатства и засоленности почвы «БЗ» состоит из 30 ступеней:*

1–3	Особо бедные (олиготрофные) почвы
4–6	Бедные
7–9	Небогатые (мезотрофные)
10–13	Довольно богатые
14–16	Богатые
17–19	Слабосолончаковые
20–21	Среднесолончаковые
22–23	Сильносолончаковые
24–28	Резкосолончаковые
29–30	Злостносолончаковые (шоровые)

*Шкала пастбищной дигрессии «ПД» состоит из 10 ступеней, отражающих величину пастбищной нагрузки:*

- 1–2 Влияние выпаса не сказывается или влияние очень слабое
- 3–4 Слабое влияние выпаса, сенокосная стадия
- 5 Умеренное влияние выпаса (полупастбищная стадия)
- 6–7 Сильное влияние выпаса (пастбищная стадия)
- 8 Полусбой
- 9 Сбой
- 10 Абсолютный сбой (голо)

*Шкала переменности увлажнения состоит из 20 ступеней:*

- 1–4 Высокое обеспеченное (бескризное) увлажнение
- 5–6 Среднеобеспеченное увлажнение
- 7–8 Переменно обеспеченное увлажнение
- 9–11 Умеренно переменное увлажнение
- 12–15 Сильнопеременное увлажнение
- 16–20 Резкопеременное увлажнение

*Шкала аллювиальности состоит из 10 ступеней:*

- 1 Без отложения наилка (или следы)
- 2–3 Очень слабо аллювиальные (0,1–0,3 см наилка)
- 4 Слабоаллювиальные (0,3–0,5 см наилка)
- 5–7 Умеренно аллювиальные (0,5–2,0 см наилка)
- 8 Сильноаллювиальные (2,0–4,0 см наилка)
- 9 Избыточно аллювиальные (5–10 см наилка)
- 10 Катастрофически аллювиальные (10–15 см наилка)

**Ход работы.** Используя геоботанические описания, справочную литературу и таблицы экологических шкал Л. Г. Раменского, провести анализ флористических списков и определить условия экотопа нарушенного и контрольного участков. Использование флористического состава сообществ в целях фитоиндикации предполагает наличие качественных геоботанических описаний со списками ценопопуляций видов и указанием их обилия или проективного покрытия. Поэтому знание видов растений, навыки определения их в поле и в камеральных условиях обязательны.

В экологических таблицах каждая экологическая формула представлена двумя ограничительными ступенями, отражающими диапазон фактора, в пределах которого вид может произрастать в данном классе обилия (табл. 3.26).

Таблица 3.26

**Фрагмент экологической таблицы**

Вид растений	Обилие	Ограничительные ступени по шкале $Y$	
		От	До
Вейник тростниковый	N	52	80
Щучка дернистая	N	63	96
Тысячелистник обыкновенный	N	41	70
Осот разнолистный	C	72	76
Герань луговая	N	61	82
Лабазник вязолистный	N	65	99
Горец змеиный	N	67	88
Лапчатка прямостоячая	N	60	89
Нивяник обыкновенный	c	53	66

Из цифр ограничительных ступеней записывают сопряженно вариационные ряды следующим образом: из групп ступеней «от» составляют вариационный ряд чисел в убывающем порядке (от наибольшего номера ступени к наименьшему), из групп ступеней «до» — в возрастающем порядке (от наименьшего номера к наибольшему). Далее определяют сумму каждой сопряженной пары ступеней и находят ту пару, на которой ряды «от» и «до» наиболее сближены по величине. Средняя из их суммы является искомой ступенью фактора. В приведенном ниже примере в табл. 3.27 решением является ступень 68,5, что соответствует влажнолуговому увлажнению.

Для обработки геоботанических описаний по амплитудным экологическим шкалам Л. Г. Раменского, Д. Н. Цыганова и точечным экологическим шкалам Э. Ландольта [Landolt] и Г. Элленберга разработана компьютерная программа EcoScaleWin [Зубкова и др.].

**Сопряженные вариационные ряды  
фрагмента экологической таблицы**

Вариационные ряды		Разность значений «от» и «до»	Сумма ступеней сопряженной пары и ее средняя
От	До		
72	65	7	$137 : 2 = 69$
67	70	3	$137 : 2 = 68,5$
65	76	11	$141 : 2 = 70,5$
63	80	17	$143 : 2 = 71,5$
61	82	21	$143 : 2 = 71,5$
60	88	28	$148 : 2 = 74,0$
53	89	36	$142 : 2 = 71,0$
52	96	44	$148 : 2 = 74,0$
41	99	58	$140 : 2 = 70,0$

***Представление результатов.***

1. Сравнительный анализ флоры из геоботанических описаний с определением уровня синантропизации растительного сообщества.

2. Определенные по экологическим шкалам Л. Г. Раменского ступени богатства почвы и пастбищной дигрессии местообитаний трех луговых сообществ.

### 3.6. ДЕНДРОХРОНОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ

В системе комплексного экологического мониторинга важное место занимает дендрохронологический, в основу которого положено слежение за изменчивостью различных показателей годичных колец деревьев. Древесные растения являются лучшими естественными мониторами, на рост которых большое влияние оказывают условия среды, что дает возможность на основе однократного обследования получать непрерывные, точно датированные и длительные ряды

наблюдений об изменениях прироста деревьев и определяющих его естественных и антропогенных факторах. Такая информация крайне важна для моделирования динамики лесных экосистем и других компонентов биосферы.

## Работа 1

### Сбор образцов древесины

**Цель работы** — освоить процедуру сбора образцов древесины, их маркировки и подготовки к транспортировке.

**Ход работы.** Для дендрохронологического анализа используются следующие образцы древесины: круговые поперечные спилы, бруски древесины по радиусу и диаметру, клиновидные выпилены с пней и живых деревьев, буровые керны и высечки. Необходимое оборудование: возрастной бур, пила, алюминиевая проволока, плоскогубцы, стамеска, бумага, клей, стержень для изготовления контейнеров под образцы, химический карандаш.

Наиболее пригодны для датировки и измерения характеристик радиального прироста древесины круговые поперечные спилы, которые позволяют изучать прирост по любому радиальному направлению и выявлять аномалии прироста. Поперечные спилы берут в основном с остатков отмерших деревьев (сухостой, валеж, полуископаемая древесина) и срубленных деревьев (строительные бревна археологических и исторических памятников). Толщина спилов зависит от степени сохранности древесины, диаметра дерева, задач исследования и необходимости их последующего хранения. Если древесина здоровая, то поперечные спилы берут толщиной 1–5 см, а если сохранность древесины плохая, то необходимо брать более толстые спилы (иногда до 10–20 см). Наибольшую сложность представляет взятие спилов с растрескавшихся и гнилых остатков деревьев. Перед тем как сделать спил с такой древесины, необходимо участок выпиливания стянуть алюминиевой проволокой диаметром 2–4 мм. По мере высыхания образца в полевых и лабораторных условиях спил нужно стягивать этой же проволокой с помощью



плоскогубцев. В случае хорошей сохранности древесины вместо радиального спила можно взять один или несколько радиальных секторов шириной 1–3 см. С хорошо сохранившихся пней и бревен можно выпилить сектора треугольной формы.

В настоящее время для взятия образцов древесины широко используют шведские возрастные буравы, которые позволяют высверливать из стволов цилиндры древесины (керны) диаметром примерно 4 мм и длиной до 40 см (рис. 3.18, *а*). Этот инструмент обычно используют для взятия образцов из живых деревьев. Керны берут по одному или нескольким радиусам, строго ориентированным по отношению к странам света или по случайному направлению. Если позволяет длина бура, то дерево просверливается насквозь и за один прием берется образец по двум противоположным радиусам. Методика взятия образцов при помощи этого инструмента очень проста: бур вкручивается в дерево с таким расчетом, чтобы попасть в центр ствола; затем в бур вставляется экстрактор, делается несколько оборотов против часовой стрелки и извлекается образец (рис. 3.18, *б*). Керны помещаются в специально подготовленные бумажные контейнеры, внутренний диаметр которых на 2–3 мм превышает диаметр образца. В таких контейнерах образцы удобно транспортировать, сушить и хранить до проведения работ по измерению и датировке колец.

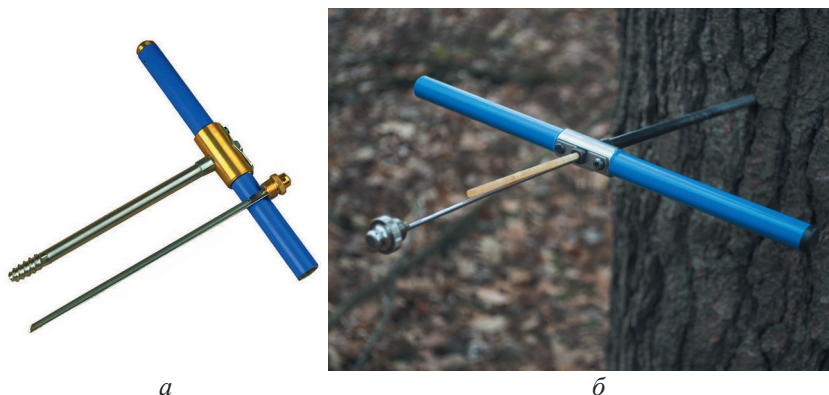


Рис. 3.18. Возрастной бур

Спилы и буровые керны обычно берут из нижней части ствола (на расстоянии 0,2–1,3 м от поверхности земли), чтобы захватить наибольшее количество колец и исключить влияние закомелистости на ширину колец. Обычно для построения одной обобщенной хронологии отбирают образцы древесины с 15–30 деревьев одного вида, а с каждого дерева — по двум радиусам.

Каждый образец древесины необходимо закодировать, при этом код наносится на поверхность образца или на контейнер химическим карандашом. В дендрохронологии наиболее широко используется кодировка, состоящая из шести символов. Первые три — код местобитания, обозначают латинскими буквами, следующие два цифровых символа (от 01 до 99) — номер дерева, последний цифровой символ (от 1 до 9) — номер радиуса. Дополнительно на образце древесины или контейнере пишут наиболее важные сведения об образце: код участка и образца, вид дерева, высота и дата взятия, фамилия коллектора.

**Представление результатов.** Собранные и этикетированные образцы древесины.

## Работа 2

### Подготовка образцов древесины к измерениям

**Цель работы** — освоить процедуру подготовки образцов древесины к измерениям. Образцы, собранные в полевых условиях, анализируются в лаборатории.

**Материалы и оборудование:** керны, спилы, лезвия, держатели для лезвий, ножи для зачистки поверхности кернов, деревянные основы для кернов, клей ПВА, шнур или скотч, электрический чайник, меловой порошок.

**Ход работы.** До начала измерений нужно провести ряд подготовительных операций:

— для поперечных спилов — шлифовку и полировку поперечного спила, выбор радиального направления для измерения,

дополнительную зачистку лезвием бритвы поверхности спила шириной 1–2 см по выбранному радиусу, повышение контрастности границ между клетками и годичными кольцами;

— для кернов — устранение скручивания, наклейка на деревянную основу, зачистка поверхности, повышение контрастности границ между клетками и годичными кольцами.

**Шлифовка и полировка поперечного спила.** Эту процедуру проводят при помощи шлифовального аппарата ленточного или кругового типа. Спил, закрепленный на ровной поверхности, сначала обрабатывают крупнозернистой шкуркой (шлифовка), а затем с помощью мелкозернистой шкурки и суконного круга производят полировку поверхности. Подобная обработка поверхности спила дает хорошие результаты в тех случаях, когда годичные кольца сравнительно широкие (более 1 мм), а древесина здоровая (без гнили). Однако такой полировки бывает недостаточно для исследования узких и поврежденных колец, в этих случаях проводят дополнительную зачистку поверхности спила.

**Дополнительная зачистка поверхности спила.** Производится для исследования сильно потрескавшихся и гнилых образцов. Поверхность спила шириной 1–2 см вдоль выбранного для измерений радиуса зачищают острым режущим инструментом (бритва, скальпель, нож, стамеска). Чтобы облегчить эту процедуру, зачищаемую поверхность нужно предварительно обильно смочить водой. Бритвенное лезвие позволяет наилучшим образом зачищать поверхность образца, не деформируя первоначальную клеточную структуру древесины. Чтобы сделать использование лезвия удобным и безопасным, В. М. Горячевым разработано специальное приспособление для удержания бритвенного лезвия в изогнутом состоянии.

**Выбор радиального направления для измерения на поперечном спиле.** На спилах можно целенаправленно выбирать радиальные направления и уже на стадии измерения свести к минимуму влияние факторов, нарушающих нормальный ход прироста. Выбор радиальных направлений на спилах, содержащих концентричные годичные кольца, особых проблем не вызывает. Чаще всего выбирают один или два радиуса, вдоль которых проводят прямую линию

в направлении от сердцевинного кольца до внешней поверхности спила. В зависимости от задач исследования направления на спилах могут выбираться по случайным радиусам или быть строго ориентированными по странам света. Важно, чтобы угол между двумя направлениями составлял не менее  $90^\circ$ , но лучше — около  $180^\circ$ .

У спилов, содержащих сильно эксцентричные годичные кольца, выбор радиальных направлений представляет определенную проблему. В каждом конкретном случае необходимо принимать решение, сообразуясь с характером прироста и поставленными задачами.

**Устранение скручивания кернов.** Довольно часто керны древесины во время бурения и высушивания скручиваются винтообразно. Причиной скручивания может быть использование плохо заточенного или грязного возрастного бура. Для устранения скручивания разработан простой эффективный метод, состоящий из двух процедур — размягчения и раскручивания образца. Образец размягчается под действием струи водяного пара, для получения которого используют электрический чайник с носиком. Образец помещают в носик чайника с кипящей водой. Одновременно с размягчением древесины производится осторожное раскручивание вручную до тех пор, пока торцевая поверхность в разных частях керна не будет представлять собой единую плоскость. По мере необходимости процедуру размягчения повторяют. Чтобы размягчить и выровнять образец, обычно требуется 5–10 мин.

**Наклейка кернов на деревянную основу.** Буровые образцы наклеивают на деревянную основу для удобства их кодировки, обработки, датировки, а также для предотвращения утери и разломов на мелкие куски. Это рейка прямоугольной формы шириной и высотой примерно по 1 см и длиной, несколько превышающей длину образца. На одной из ее сторон выточен паз, ширина которого немного больше и глубина немного меньше диаметра керна. Для фиксации кернов обычно используется клей ПВА. При наклейке образца необходимо, чтобы поперечная волокнам древесины (торцевая) поверхность керна была параллельна верхней поверхности деревянной основы. Торцевая поверхность хорошо отличается от радиальной при внимательном рассмотрении образца.

Последовательность процедуры наклеивания состоит в следующем. На боковую поверхность деревянной основы химическим карандашом или ручкой переносят данные с транспортировочного контейнера образца, это исключит в дальнейшем ошибки в идентификации образцов. Затем в паз деревянной основы заливают слой клея толщиной 1–2 мм и в него помещают предварительно раскрученный керн, обращая особое внимание на то, чтобы торцевая поверхность керна была параллельна верхней поверхности деревянной основы. Затем образец фиксируют крепкой ниткой, шнуром или скотчем, чтобы исключить коробление и изменение наклона торцевой поверхности образца в процессе высыхания клея. После высыхания клея обмотку снимают и приступают к дальнейшей работе с образцом.

**Зачистка поверхности керна.** Зачистку торцевой поверхности наклеенного на деревянную основу керна можно проводить при помощи шлифовального инструмента. В этом случае несколько кернов, наклеенных на деревянную основу, фиксируют на ровной поверхности стола и шлифуют так же, как и поперечные спилы. Наилучшим способом является зачистка при помощи специального ножа или лезвия бритвы, при этом у предварительно смоченного водой образца срезают 1–2 мм торцевой поверхности.

**Повышение контрастности границ между клетками и годичными кольцами.** Для увеличения контрастности границ между клетками и годичными кольцами используют несколько способов: смачивание поверхности водой и маслянистыми жидкостями, окраску различными красителями, втирание порошка, обжигание поверхности над пламенем. В настоящее время чаще всего используется сухой способ — втирание в зачищенную поверхность мелко размолотого белого порошка (например, зубного порошка) с помощью кусочка ваты. Особенно эффективен сухой способ при обработке древесины, пораженной гнилями и потемневшей, в частности полуископаемой.

***Представление результатов.*** Подготовленные к измерениям образцы древесины.

## Работа 3

### Измерение и датировка характеристик годовых слоев древесины

**Цель работы** — освоить процедуру предварительной датировки годовых колец, измерения их ширины и метода перекрестной датировки графиков между собой.

Эта работа является наиболее важной и трудоемкой в дендрохронологии.

**Материалы и оборудование.** Спилы, керны, микроскоп, препаровальная игла, химический карандаш, измерительный комплекс.

**Ход работы.** От точности измерений и правильности датировки зависит качество получаемых древесно-кольцевых хронологий. Работа состоит из четырех этапов: предварительной датировки годовых колец, измерения ширины годовых слоев древесины, окончательной датировки колец, построения индивидуальной древесно-кольцевой хронологии.

**Предварительная датировка годовых колец.** На керне или в пределах каждого выбранного для измерения радиального направления на спиле прежде всего проводятся предварительная датировка и маркировка годовых колец под лупой или микроскопом при 16–40-кратном увеличении, чтобы выявить довольно узкие кольца, состоящие всего из 1–2 слоев клеток. Эта датировка называется предварительной, так как учитываются лишь видимые кольца. Маркировка колец при предварительной датировке производится с помощью тонкой иглы. Уколом иглы помечается каждое десятое от центра кольцо (10, 20, 30 и т. д.) для образцов с неизвестной датой образования последнего подкорового кольца, при этом каждое пятидесятое кольцо (50, 150, 250 и т. д.) помечают двумя уколами, а каждое сотое (100, 200 и т. д.) — тремя. Если образец взят с живого дерева и известен год формирования последнего подкорового кольца, датировку производят при помощи обратного отсчета и маркируют одним уколом иглы кольца, образовавшиеся в каждый десятый год (1990, 1980, 1970 и т. д.). Кольца каждого пятидесятилетия (1950, 1850, 1750 и т. д.) маркируют двумя точками, а каждого столетия

(2000, 1900, 1800 и т. д.) — тремя (рис. 3.19). Эта процедура помогает во время измерения контролировать подсчет колец и затем, при окончательной датировке, быстро находить местоположение нужного кольца на образце.

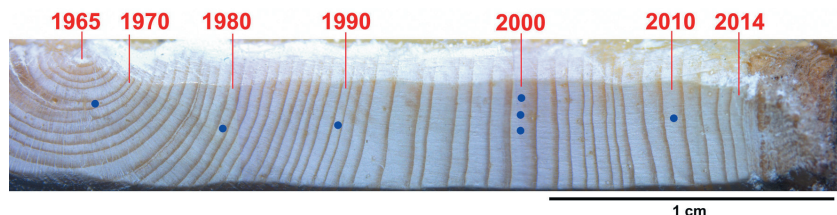


Рис. 3.19. Защищенный буровой образец ели, подготовленный для измерения ширины годовичных колец

**Измерение ширины годовичных слоев древесины.** В настоящее время для получения количественных характеристик годовичных слоев древесины широко используются специально сконструированные полуавтоматические комплексы, которые состоят из бинокулярного микроскопа,двигающегося столика, приспособления, преобразующего электронный сигнал в цифровой, прерывателя сигнала и компьютера со специальным программным обеспечением. Для измерения образец древесины устанавливают под микроскоп на столике таким образом, чтобы направление измерения (кратчайшее расстояние между границами смежных колец) совпадало с направлением движения столика. Для соблюдения этого условия необходимо в процессе измерения поворачивать образец. Чтобы измерить ширину кольца, вертикальную линию на измерительной линейке окуляра микроскопа совмещают с границей кольца, а горизонтальную линию оптического прицела — с линией измерения; поворотом рукоятки смещают столик с образцом древесины до границы следующего кольца и нажатием кнопки вводят данные измерения в компьютер.

**Окончательная датировка колец.** Существуют два подхода к проведению работ по окончательной датировке годовичных колец. При первом подходе сначала измеряют параметры прироста и строят графики предварительно датированных образцов, а затем проводят окончательную абсолютную или относительную датировку колец.

При втором подходе сначала производят датировку колец, а затем их измерение. Поскольку операции по датировке и измерению часто проводят одновременно, резкой грани между этими подходами не существует. Использование того или другого подхода зависит от целей исследования, вида и качества образцов древесины, чувствительности древесно-кольцевых хронологий.

Окончательная датировка колец проводится с помощью метода перекрестной датировки, который представляет собой сравнение рисунков колец у различных деревьев и выбор точного места, где найдено соответствие в характере изменчивости показателей прироста между рассматриваемыми образцами. Этот метод позволяет выявлять нарушение синхронности в пределах отдельных временных интервалов и тем самым выявлять точное положение ложных и выпавших колец.

С помощью данного метода производят как относительную, так и абсолютную датировку времени формирования слоев прироста древесины. Относительная датировка заключается в определении пар колец у сравниваемых образцов, которые сформировались в один и тот же год, но календарная дата неизвестна. В этом случае можно лишь определить, на сколько лет раньше или позже было срублено или погибло одно дерево по отношению к другому на основе подсчета разницы в годах формирования подкорковых колец. При внимательном изучении подкорковых колец можно определить сезон рубки или гибели дерева. Абсолютная датировка — это точное определение календарной даты образования всех годовичных колец у исследуемых образцов; она может быть произведена только в том случае, если известна календарная дата взятия образца древесины по меньшей мере у одного живого дерева, кольцевая хронология которого перекрестно датирована с другими кольцевыми хронологиями.

Для перекрестной датировки обычно используют графики, построенные по данным замеров ширины годовичных колец или других параметров годовичного кольца (ранняя и поздняя древесина и др.). На таком графике по оси абсцисс откладывается календарное время в годах (слева направо), а по оси ординат — величина годовичного прироста или другие характеристики годовичных колец. Масштаб у сравниваемых графиков должен совпадать. Если графики рисуют



на бумаге, то наиболее удобным масштабом по оси абсцисс является такой, при котором данные для каждого календарного года наносятся через 2 мм. Вертикальный масштаб зависит от диапазона изменчивости показателей прироста конкретной хронологии. Для глазомерного анализа бумажных графиков наиболее удобно, когда максимальные значения удалены от оси абсцисс не более чем на 15–20 см. Графики строят на миллиметровой бумаге вручную или при помощи графопостроителей и принтеров. Для глазомерной датировки колец при помощи бумажных графиков желательно использовать специальный стол с подсветкой снизу. В настоящее время датировку графиков проводят на экране монитора с помощью специализированных компьютерных программ (например, TSAP).

**Процедура перекрестной датировки.** Первый подход предложен Б. Хубером. Сначала проводят измерение колец у предварительно датированных образцов, на их основе строят графики изменения прироста для каждого радиуса, которые затем визуальным сопоставляют друг с другом, чтобы выявить сходство и различия между ними, определить местоположение выпавших, ложных, пропущенных или лишних колец (рис. 3.20). В первую очередь сопоставляют графики замеров колец у молодых, быстрорастущих деревьев, где вероятность выпадения колец и других нарушений структуры является наименьшей. При этом обращают внимание на реперные годы. Как правило, это самые узкие и самые широкие кольца, а также кольца, содержащие патологические структуры (морозобойные, светлые, ложные кольца и др.). При глазомерной датировке сравниваемых серий колец большую помощь оказывают так называемые блоки или характерные интервалы, которые представляют собой определенную последовательность в изменчивости от 4 до 10–15 колец (так называемую «гребенку»), очень сходную у разных индивидуальных хронологий. Если на одном из сравниваемых графиков имеется ложное или выпавшее кольцо, синхронность в изменчивости прироста между некоторыми из сравниваемых участков нарушается, а положение реперных лет смещается на один год. Сдвигая несинхронный участок одной хронологии на один год относительно другой хронологии, можно точно определить место ложного или выпавшего кольца. При обнаружении местонахождения

выпавшего кольца в данные по измерениям в этот год вставляют значение «0». В случае обнаружения ложного кольца данные замеров двух колец, составляющих ложное, суммируют и значение этой суммы вставляют на их место.

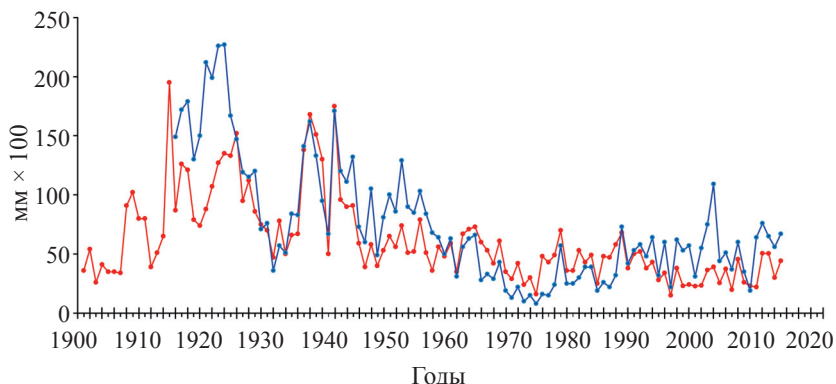


Рис. 3.20. Пример перекрестной датировки графиков ширины годичных колец двух деревьев

Как правило, выпавшее кольцо датируется годом, когда на другой хронологии было сформировано узкое кольцо. Ложные кольца легко выявить у большинства видов деревьев. Граница кольца у них не такая резкая, как у настоящих, а ширина зоны клеток поздней древесины существенно изменяется (вплоть до исчезновения) по окружности кольца.

После визуальной оценки синхронности всех графиков между собой производится окончательная абсолютная или относительная датировка колец у каждой индивидуальной древесно-кольцевой хронологии.

При втором подходе производится датировка древесных колец без их измерения. Эта датировка основана на глазомерном изучении относительной изменчивости годичного прироста древесины с помощью лупы или микроскопа непосредственно на образце, когда в ходе предварительной датировки обращают особое внимание на экстремальные величины прироста и наличие патологических структур в годичных кольцах. Перекрестная датировка проводится

при помощи скелетных графиков, метод построения которых предложил А. Е. Дуглас. На миллиметровой бумаге по оси абсцисс отмечают годы жизни образца в масштабе 1 год = 2 мм. На графике отмечают лишь особенные годы, отличающиеся от серии соседних лет вертикальными столбиками разной высоты. Затем скелетные графики сравнивают между собой, выявляя сдвиги в положении реперных колец, и определяют местоположение выпавших и ложных колец. По индивидуальным хронологиям строят усредненную хронологию на основе вычисления средней длины столбиков в отдельные годы. Преимуществом скелетных графиков является то, что нет необходимости в измерении колец и можно использовать этот метод датировки непосредственно на месте взятия образцов древесины.

Для целей датировки большое значение имеет сопоставление рассматриваемых хронологий с хронологиями, полученными ранее для исследуемого района как по данному виду древесного растения, так и по другим видам. Если изменчивость прироста у разных видов в высокой степени зависит от одного и того же климатического фактора, по крайней мере в экстремальные по климатическим условиям годы, то перекрестная датировка между такими хронологиями вполне осуществима. Крайне желательно, чтобы правильность перекрестной датировки, выполненной одним исследователем, была проверена другим специалистом.

В настоящее время для проведения перекрестной датировки широко используются специальные компьютерные программы. Разработано несколько программ, которые пошагово сдвигают индивидуальные хронологии относительно друг друга на один год и на основе расчета коэффициентов корреляции и синхронности делают заключение, в пределах какого отрезка сравниваемых кривых сходство между ними наибольшее и какова величина возможного сдвига. Наиболее известной и широко используемой из них является программа COFECOA [Holmes]. Для выявления ложных и выпадающих колец очень удобна программа TSAP 3.5 [Rinn], которая позволяет рассматривать на экране монитора кривые изменения показателей прироста у большого числа деревьев, сдвигать кривые на нужное число лет, вставлять и удалять кольца.

Компьютерные программы намного облегчают процесс перекрестной датировки, однако окончательное решение по ее правильности принимает исследователь на основании визуальной оценки синхронности графиков и сопоставления выявленных особенностей в годовичных кольцах.

Метод перекрестной датировки позволяет не только датировать кольца у ныне живущих деревьев, но и продлевать хронологию далеко в глубь веков, используя древесину давно усохших или срубленных деревьев, сохранившуюся до настоящего времени на земной поверхности в виде сухостоя, валежа, строительных бревен, и древесину, погребенную в торфяных, речных, озерных, морских отложениях, а также в культурных слоях археологических памятников.

После окончательной датировки годовичных слоев производят маркировку колец на образце химическим карандашом, помечая кольца каждого десятилетия как при предварительной датировке.

***Представление результатов.*** Датировка годовичных слоев образцов древесины.

## Работа 4

### Статистический анализ древесно-кольцевой хронологии

***Цель работы*** — освоить методы разделения биотических и абиотических факторов в рядах ширины годовичного прироста древесных растений, построения обобщенных и генерализированных хронологий, оценки климатического сигнала построенных хронологий, реконструкции климатических факторов, корреляционного и спектрального анализа.

***Содержание работы.*** Используя данные измерений ширины годовичных слоев древесины в виде электронных файлов специального формата, программное обеспечение для персональных компьютеров в среде WINDOWS (EXCEL, DPL, TREND, GNRL, SIMILA, SPECTR, SINUS), при помощи древесно-кольцевого анализа можно

производить реконструкцию многих важных климатических и гидрологических характеристик, основными из которых являются температура воздуха в различные сезоны и за год; количество осадков в различные сезоны и за год; аномалии атмосферного давления; повторяемость и интенсивность засух; колебания уровней озер, сток рек; повторяемость заморозков в течение вегетационного периода и сильных морозов в зимнее время; изменчивость гидротермических коэффициентов.

В рядах изменчивости абсолютных величин прироста деревьев содержатся самые различные неклиматические сигналы (возрастные изменения, влияние почвенно-грунтовых условий, конкурентные взаимоотношения, воздействие различных катастрофических факторов и др.). В дендроклиматологии разработана специальная методика, позволяющая исключать или по крайней мере сильно снижать их влияние при помощи процедуры стандартизации или индексирования, которая переводит абсолютные величины прироста в относительные. Это дает возможность сопоставлять изменчивость прироста у хронологий, полученных для различных видов деревьев, условий местообитания и районов. Рассмотрим кратко теоретическую основу метода. Индивидуальный ряд ширины годичных колец представляют как линейно-агрегированную совокупность временных компонент:

$$R_t = A_t + C_t + \delta D1_t + \delta D2_t + E_t,$$

где  $R_t$  — ширина годичного кольца для календарного года  $t$ ;  $A_t$  — возрастной тренд;  $C_t$  — климатическая компонента;  $D1_t$  — отклонения в росте, обусловленные эндогенными факторами;  $D2_t$  — отклонения в росте, обусловленные экзогенными факторами неклиматической природы (пожары, насекомые и др.);  $E_t$  — изменчивость, не учтенная перечисленными выше компонентами;  $\delta$  — коэффициент, учитывающий действие эндо- и экзогенных факторов на данном временном интервале (т. е.  $\delta = 1$  или  $0$ ).

Ввиду сложности определения  $A_t$ ,  $D1_t$  и  $D2_t$  возрастной тренд практически оценивается как некоторая функция трех компонент:

$$G_t = f(A_t, \delta D1_t, \delta D2_t).$$

На практике при увеличении ширины годичных колец увеличивается и среднеквадратичное отклонение, поэтому стандартизация или индексирование ряда абсолютных величин выполняется делением ширины годичного кольца на его теоретическое значение, оцениваемое  $G_t$ :

$$I_t = \frac{R_t}{G_t},$$

где  $I_t$  — индекс годичного кольца. Детально процедура стандартизации и методов оценки ее качества изложена в работе [Cook].

Индексация ширины годичных колец производится для каждой индивидуальной хронологии, полученной по отдельному радиусу. После этого данные обладают существенными для целей дендроклиматических исследований свойствами. Значения прироста за каждый год выражены в процентах, т. е. в относительных единицах, что дает возможность их сравнивать и усреднять. Индексированные ряды имеют одинаковые средние (100 % по использованному методу вычисления) и статистически равные дисперсии. У каждого такого ряда в значительной степени исключены индивидуальные особенности радиального роста дерева и сохранены общая для данной совокупности деревьев изменчивость (сигнал).

Существует множество статистических пакетов и специальных программ для индексации рядов. На занятиях рассматривается программа TREND. Она дает возможность вносить поправки в форму теоретической возрастной кривой непосредственно при вычислениях благодаря наличию специального графического редактора. Тем самым во многих случаях, когда компоненты  $D1_t$  или  $D2_t$  явно выражены, имеется возможность в некоторой степени исключать влияние факторов неклиматической природы, приводящих к резкому изменению абсолютного прироста деревьев и тем самым усиливать климатический сигнал (рис. 3.21).

Известно, что ряды ширины годичных колец и индексированные ряды обладают определенной инерционностью или автокорреляцией вследствие физиологических причин. Обычно такую составляющую достаточно адекватно моделируют авторегрессионным (AR) процессом, разработанным в теории временных

рядов. Индивидуальные ряды индексов ширины годичных колец моделируются процессами  $AR(p)$ , получают так называемые «выбеленные» хронологии. Такую процедуру осуществляют при помощи программы ARSTAN в пакете DPL. Оценку сходства индивидуальных рядов индексов ширины годичных колец можно осуществить при помощи программы SIMILA.

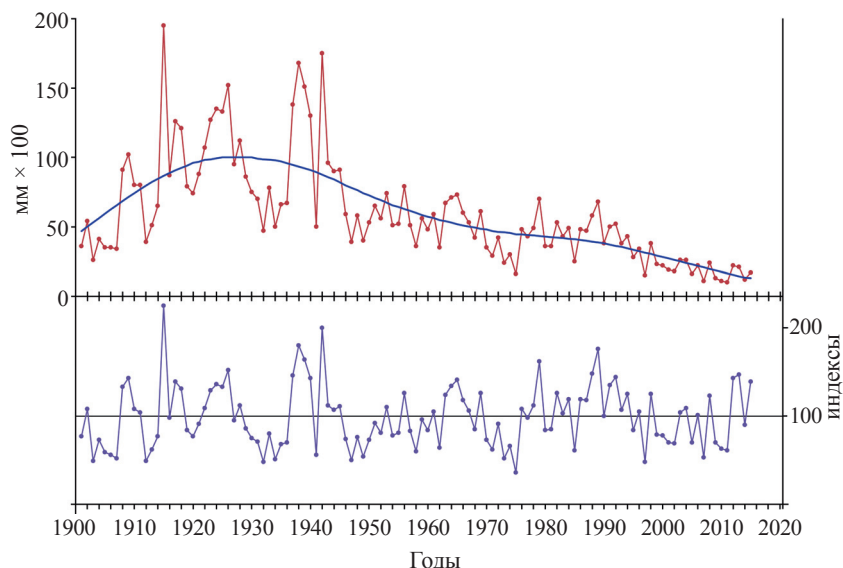


Рис. 3.21. Пример стандартизации ряда по ширине колец 50 % сплайном

Обобщенный ряд индексов прироста для отдельного участка и определенного вида дерева получают осреднением индивидуальных выбеленных хронологий. При этом выбирают одну из следующих оценок: арифметическое среднее, робастное оценивание или максимальную моду при полимодальном распределении. Для получения обобщенных рядов используют программу ARSTAN в пакете DPL или GNRL.

К настоящему времени в дендроклиматологии вопрос о статистическом анализе связи индексов прироста деревьев с климатическими переменными достаточно хорошо и глубоко разработан.

Анализ основан на оценке и интерпретации так называемых функций отклика. Их использование для объяснения климатически обусловленной изменчивости радиального прироста деревьев продемонстрировано на большом числе примеров, как для отдельных хронологий, так и для совокупности пространственно-распределенных хронологий. Эта статистическая процедура позволяет с помощью коэффициентов регрессии оценить относительный вклад каждой из исходных климатических переменных (например, температуры воздуха и осадков отдельных месяцев) при помощи множественной регрессионной модели, описывающей изменчивость индексов прироста деревьев. Полезен анализ функций отклика в случаях, когда отсутствуют какие-либо предположения или гипотезы о возможном влиянии тех или иных климатических факторов на рост древесных растений в конкретных условиях.

Процедура их оценок начинается с расчета корреляций между индексами прироста и ежемесячными значениями температуры воздуха и осадков за период, в течение которого возможно влияние климатических факторов на годичный радиальный прирост древесины. В анализ включают месячные значения климатических переменных с января по август текущего года и с сентября по декабрь предыдущего года роста дерева. В дальнейшем производится расчет коэффициентов множественного линейного регрессионного уравнения. Расчет климатических функций отклика осуществляется при помощи программы RESPO в пакете DPL.

Процедура реконструкции климатических факторов основана на тех же подходах, что и расчет климатических функций отклика, с той лишь разницей, что решается обратная задача. Используется регрессионное уравнение, в котором климатическая переменная является зависимой переменной, а индексы прироста — независимой. Используется программа RECON в пакете DPL.

Изучение цикличности в динамике годичного радиального прироста деревьев началось в начале XX столетия в связи с возросшим интересом климатологов и гелиогеофизиков к установлению солнечно-земных связей. Особое место в таких исследованиях занимают статистические методы оценки параметров циклов (спектральный анализ).



Распределение дисперсии случайного процесса (в нашем случае обобщенной древесно-кольцевой хронологии) по частотам называют функцией спектральной плотности. При анализе функции спектральной плотности всякий «всплеск» функции на интервале ее определения интерпретируется как увеличенный вклад соответствующих частотных составляющих в общую дисперсию. В спектральном разложении дендрохронологических рядов существуют важные узкие частотные полосы, на которых амплитуда изменчивости выше по сравнению с соседними. Эти частотные полосы могут быть характеристикой при изучении цикличности в динамике годовичного прироста древесины. Если определенная частотная полоса важна для большинства рядов выбранного района исследования, то у нас имеются веские основания говорить о неслучайном проявлении соответствующего цикла. Спектральную плотность оценивают при помощи программы SPECTR.

Анализ цикличности дендрохронологических рядов, проводимый при помощи программы SINUS, позволяет дать прогноз климатически обусловленной динамики прироста древесных растений. При этом каждый цикл заменяют (аппроксимируют) периодической функцией (например, синусоидой), а прогноз представляют суммой значений таких функций на еще не наступивший момент времени.

***Представление результатов.*** Прогноз климатически обусловленных динамик прироста древесных растений на основе анализа цикличности дендрохронологических рядов.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Какие основные типы древесных образцов используются для дендрохронологического анализа и каковы методы их сбора?
2. В какой последовательности осуществляется подготовка образца для измерения?
3. В чем отличия предварительной и окончательной датировки колец древесины?
4. Что представляет собой скелетный график?

5. Что означает «относительная» и «абсолютная» датировка годовичных колец?
6. На чем основан метод перекрестной датировки хронологий?
7. Назовите два основных подхода при перекрестной датировке.
8. Для чего проводится стандартизация (индексация) ширины годовичных колец?
9. Какие способы получения обобщенных хронологий вы знаете?
10. Для чего проводится анализ функций отклика?

### 3.7. ЦЕНОПОПУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

Каждый вид растений в природе представлен большим числом особей, объединенных в популяции. Ценопопуляция, или фитоценотическая популяция, — это группа особей одного вида на определенной экологически однородной территории, т. е. в пределах одного растительного сообщества (фитоценоза).

Ценопопуляция, как и любая другая биологическая система, имеет свой состав, структуру и определенные закономерности изменения во времени. Между собой ценопопуляции могут различаться по массе, плотности, распределению особей в пространстве, соотношению полов (для двудомных растений), возрастной структуре, виталитету (жизненности), генетической структуре и т. д. Состояние популяций в определенной степени характеризует состояние окружающей среды.

Для изучения ценопопуляций сбор материала проводят в пределах контура фитоценоза на трансектах или изолированных площадках квадратной формы. Прокладывают несколько трансект, пересекающих все скопления особей изучаемого вида. Трансекты могут быть заложены случайным или регулярным способом. Длина трансекты может составлять от 5 до 25 м и более. Ширина ленточной трансекты подбирается эмпирическим методом в зависимости от биологических особенностей вида. Площадки на трансектах

располагают сплошь, регулярно или по методу случайных чисел. Изолированные площадки также могут быть заложены случайно или регулярно. Число площадок зависит от задач исследователя и особенностей вида (от 10–25 до 100–250 шт.).

Как правило, для дерновинных растений размер площадок составляет 0,25–1,0 м<sup>2</sup>, для вегетативно-подвижных 0,5–2,0 м<sup>2</sup>; для малолетников 0,1–0,2 м<sup>2</sup>. Размеры площадок для травянистых растений и полукустарников в зависимости от особенностей видов могут быть 0,25 × 0,25 м (0,0625 м<sup>2</sup>); 0,5 × 0,5 м (0,25 м<sup>2</sup>); 1 × 1 м (1 м<sup>2</sup>) и т. д., для древесных видов 100–2500 м<sup>2</sup>. На каждой учетной площадке все особи вида выкапывают и гербаризируют для дальнейшего анализа.

Редкие виды учитывают без выкапывания, в полевых условиях, с указанием высоты и возрастного состояния. Обработка материала проводится в камеральных условиях.

## Работа 1

### Определение возрастной структуры ценопопуляций

Особи растений, входящие в состав ценопопуляции, как правило, различаются по возрасту. Определить календарный (абсолютный) возраст растений достаточно сложно, зачастую и вовсе невозможно, поэтому устанавливают относительный возраст (онтогенетический) — возрастное состояние растений. В ценопопуляционных исследованиях выделение возрастных групп особей обычно производится в соответствии с классификацией возрастных состояний, предложенной Т. А. Работновым, с некоторыми дополнениями и изменениями, внесенными А. А. Урановым и его учениками. Отнесение растений к тому или иному возрастному состоянию производится на основании комплекса качественных признаков (рис. 3.22). Наиболее существенными из них являются способ питания (связь с семенем); наличие зародышевых, ювенильных или взрослых структур и количественные соотношения их у особи; способность

особей к семенному или вегетативному размножению, соотношение и интенсивность этих процессов; соотношение процессов новообразования и отмирания у особи, степень сформированности у особи основных признаков биоморф.

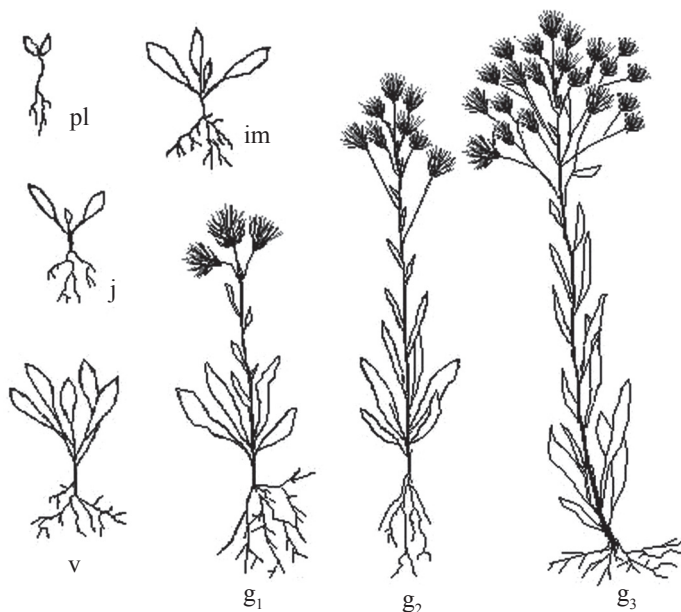


Рис. 3.22. Возрастные состояния *Erigeron acris* L.

**Цель работы** — определить возрастной состав ценопопуляций нарушенных растительных сообществ.

**Материалы и оборудование.**

1. Гербарные или живые образцы растений.
2. Определительные таблицы с ключами возрастных состояний растений.

**Ход работы.** Для определения возрастного состояния используются определительные таблицы. Для каждого возрастного состояния образцов растений составляется описание, включающее основные морфологические признаки данного состояния. Затем определяется число особей каждого вида, принадлежащих тому или иному

возрастному состоянию для каждой учетной площадки. Данные заносятся в таблицу (табл. 3.28).

Таблица 3.28

**Количество особей разных возрастных состояний**

Вид расте- ния	№ учетной площадки	Возрастное состояние								
		<i>p</i>	<i>j</i>	<i>im</i>	<i>v</i>	<i>g</i> <sub>1</sub>	<i>g</i> <sub>2</sub>	<i>g</i> <sub>3</sub>	<i>ss</i>	<i>s</i>
А	1									
	2									
	...									
	<i>Всего</i>									
Б	1									
	2									
	...									
	<i>Всего</i>									

Возрастная структура (возрастной спектр) ценопопуляции, соотношение особей разных возрастных состояний, определяется отдельно для каждого вида растений. Возрастной спектр может быть выражен в абсолютных числах или в процентах от общего числа особей. Возрастной спектр может быть представлен также в виде гистограммы или графика. Примеры спектров представлены на рис. 3.23 и 3.24.

**Представление результатов.** На основании полученных данных необходимо представить описание возрастных состояний видов, таблицы и диаграммы возрастного состава рассмотренных ценопопуляций по абсолютному значению и долевному участию (%).

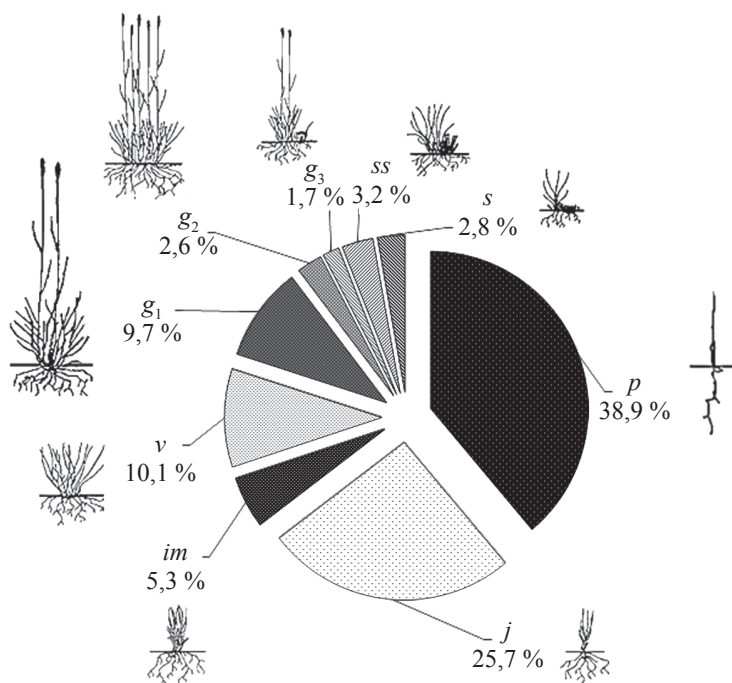


Рис. 3.23. Возрастной спектр ценопопуляции *Agropyron pectinatum* (Bieb.) Beauv.

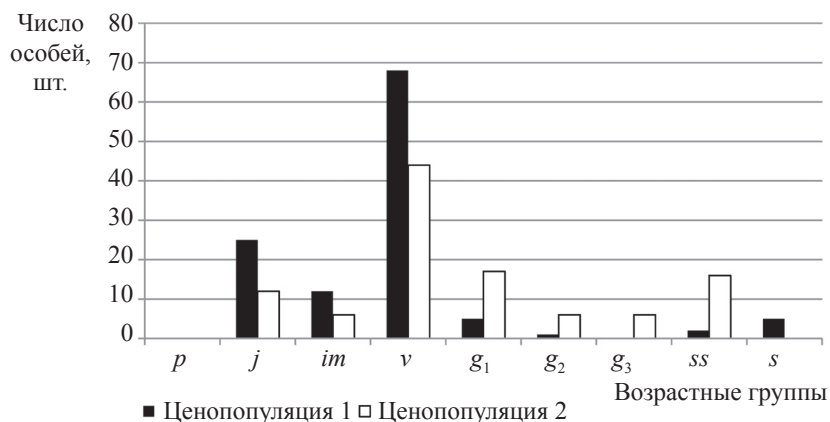


Рис. 3.24. Возрастные спектры ценопопуляций *Potentilla bifurca* L. на золотоотвалах

## Работа 2

### Морфологический анализ растений

В каждый момент времени любой организм характеризуется специфическим набором морфологических, анатомических, физиологических и других признаков, совокупность которых определяет его онтогенетическое состояние.

**Цель работы** — определить биометрические параметры растений двух ценопопуляций одного вида: нарушенного и контрольного сообществ. Оценить изменчивость признаков особей разного возрастного состояния.

#### **Материалы и оборудование.**

1. Гербарные образцы растений (два варианта).
2. Линейка.
3. Лабораторные электронные аналитические весы.

**Ход работы.** Морфологический анализ вегетативных и генеративных особей/побегов проводят для каждой возрастной группы рассматриваемой ценопопуляции. Для анализа берут 50–100 вегетативных и генеративных особей. У вегетативных особей измеряют следующие биометрические параметры: высоту особи/побега (см), количество живых листьев (шт.), длину листа (см), ширину листа (см), надземную массу (г). У генеративных особей измеряют дополнительно: длину соцветия (см), количество веточек в соцветии (шт.), число цветков в одном соцветии (шт.), число соцветий на растении (шт.), число цветков на растении (шт.), число плодов на одном соцветии (шт.), число плодов на растении (шт.), масса соцветия (г), массу семян в соцветии (г). Набор параметров может меняться в зависимости от вида растения. Полученные данные заносят в таблицу (табл. 3.29).

Для сравнения совокупностей по их изменчивости необходимо вычислять коэффициент вариации ( $C_v$ ):

$$C_v = \frac{\sigma \times 100\%}{x_{\text{ср}}}.$$

Таблица 3.29

**Биометрические параметры вегетативных особей ценопопуляций**

Сообщество	№ особи п/п	Высота особи, см	Количество живых ли- стьев, шт.	Длина листа, см	Ши- рина листа, см	Масса особи, г	Группи- рующая
А	1						1
	2						1
	3						1
	...						1
	50						1
Б	1						2
	2						2
	3						2
	...						2
	50						2

Коэффициент вариации является числом относительным и дает возможность оценить изменчивость признаков. Поэтому коэффициент вариации имеет важное значение, например, для установления степени выровненности популяции или сорта по тому или иному признаку.

В зависимости от величины коэффициента вариации варьирование (в биологических условиях) считают *небольшими* (0–10 %), *средними* (11–20 %) и *большими* (>20 %) [Зайцев].

**Представление результатов.** Представить биометрическую характеристику двух ценопопуляций в виде таблицы. Сравнить данные по двум выборкам с литературными данными.

Материал должен быть обработан стандартными методами математической статистики. Следует использовать стандартные статистические показатели выборки:

— среднее арифметическое значение  $\pm$  ошибка среднего ( $\bar{X}_{\text{ср}} \pm m$ );



- пределы изменения признака (lim): а) минимальное значение (min), б) максимальное значение (max);
- стандартное отклонение (среднее квадратическое отклонение) ( $\sigma$ );
- коэффициент вариации ( $C_v$ );
- достоверность полученных данных ( $p < 5\%$ ).

Для обработки полученных данных использовать программный пакет MS Office (Excel) и Statistica 6.0. Данные представить в виде табл. 3.30.

Таблица 3.30

### Биометрические показатели

Признак	$X_{\text{ср}} \pm m$	lim		$\sigma$	$C_v, \%$
		min	max		

## Работа 3

### Определение плотности и массы ценопопуляций растений

*Плотность ценопопуляции* — это количество особей (генет), ценобионтов (рамет, побегов) изучаемого вида, приходящихся на единицу площади (например, особей/1 м<sup>2</sup>; побегов/1 м<sup>2</sup> и т. д.). Генет (от греч. genesis — происхождение) — особь семенного происхождения. Рамет (от англ. *ramate*, лат. *ramus* — ветвь, ответвление) — особь вегетативного происхождения или ее часть. Рамет представляет собой окорененную, физиологически (полностью или частично) самостоятельную часть генета. У особей некоторых жизненных форм рамет соответствует парциальному кусту или окорененному побегу. При широкой распространенности вегетативного

размножения именно раметы у многих видов растений являются счетными единицами при исследовании ценопопуляций. Для длиннокорневищных (вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth)) и корневищно-рыхлокустовых (кострец безостый (*Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub)) злаков определяется количество побегов (ценобионтов) (рис. 3.25).

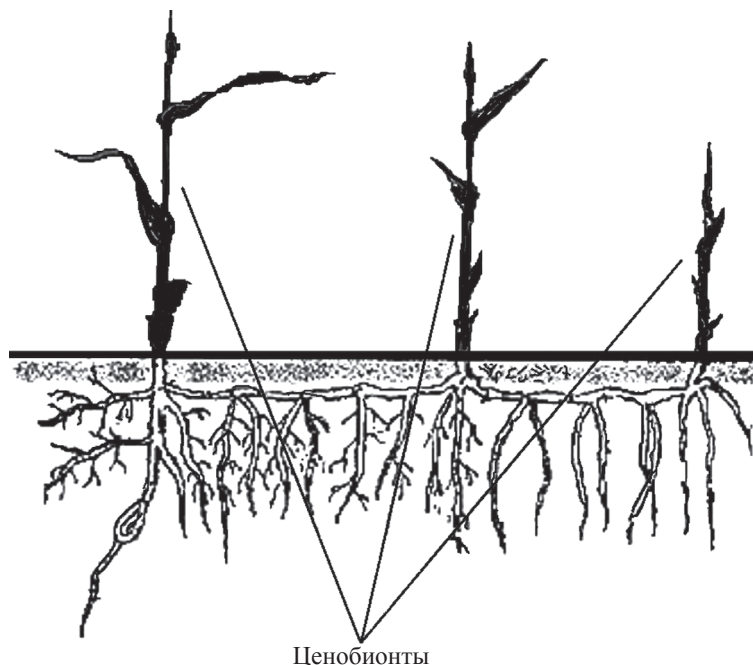


Рис. 3.25. Ценобионты — счетные единицы при исследовании ценопопуляций

**Масса популяции.** Массу популяции, как и ее плотность, определяют на единицу площади. Виды, популяции которых в сообществе преобладают по массе, называются доминантами, виды с малой массой популяции — второстепенными.

**Цель работы** — оценить плотность и надземную массу ценопопуляций нарушенного и контрольного сообществ.

### ***Материалы и оборудование.***

1. Растения (укосы), собранные на учетных площадках. Растения каждой учетной площадки (срезанные на уровне почвы и высушенные до воздушно-сухого веса) хранятся в отдельном пакете или, при небольших размерах, на гербарном листе.

2. Лабораторные электронные технические весы.

***Ход работы.*** В укосах учетных площадок определяют количество особей/побегов отдельных видов и вносят данные по каждой ценопопуляции в таблицу (табл. 3.31). Определяют среднюю плотность и массу (надземной части) ценопопуляций из разных растительных сообществ.

*Таблица 3.31*

#### **Ценопопуляция вида в условиях нарушения**

№ учетной площадки (укоса)	Особей/побегов на площадке	Масса, г
1		
2		
3		
...		
Среднее		
Контрольная ценопопуляция		
1		
2		
3		
...		
Среднее		

***Представление результатов.*** Заключение о плотности и массе ценопопуляций растений, изученных на нарушенных промышленностью землях и на контрольном участках. Список преобладающих по массе видов (доминанты) и второстепенных.

Заключение оформить в виде табл. 3.32 и вывода.

Плотность и масса ценопопуляций

Вид	Ценопопуляция с нарушенной территории		Контроль	
	Плотность, шт/м <sup>2</sup>	Масса, г/м <sup>2</sup>	Плотность, шт/м <sup>2</sup>	Масса, г/м <sup>2</sup>
А				
Б				

## Работа 4

### Определение типа возрастной структуры ценопопуляций

А. А. Уранов [Уранов, с. 21] ввел понятие возрастности особи ( $m_i$ ) и индекса возрастности популяции ( $\Delta$ ). Возрастность — это доля энергии, потребленной особью к данному возрастному состоянию  $i$ , по отношению ко всей энергии, доступной ей в течение полного онтогенеза:

$$m_i = \frac{1}{1 + e^{6-i}}. \quad (1)$$

А. А. Урановым была определена возрастность особей для каждой возрастной группы (табл. 3.33). Групповой коэффициент дает представление о вкладе каждой группы в общую возрастность ценопопуляции.

Индекс возрастности популяции — это средневзвешенные значения  $m_i$ , где «весом» является доля растений  $i$ -го состояния:

$$\Delta = \frac{\sum K_i \cdot \Delta_i}{M}, \quad (2)$$

где  $M$  — численность всей популяции;  $K_i$  — численность конкретной возрастной группы;  $\Delta_i$  — «вес» возрастности конкретной возрастной группы.

**Возрастные состояния и их характеристики**  
 [Уранов, с. 26; Животовский, с. 4]

Возрастное состояние	Балл состояния, $i$	Возрастность особей, $m_i$	Эффективность, $e_i$
$sm$	0	0,0025	0,0099
$pl$	1	0,0067	0,0266
$j$	2	0,0180	0,0707
$im$	3	0,0474	0,1807
$v$	4	0,1192	0,4200
$g_1$	5	0,2689	0,7864
$g_2$	6	0,5000	1
$g_3$	7	0,7311	0,7864
$ss$	8	0,8808	0,4200
$s$	9	0,9529	0,1807
$sc$	10	0,9820	0,0707

Соответственно индексу возрастности Л. А. Животовский [Животовский] ввел понятие средней энергетической эффективности популяции ( $\omega$ ), или индекс эффективности как средневзвешенное значение величин  $e_i$ :

$$\omega = \frac{\sum n_i \cdot e_i}{\sum n_i}, \text{ или } \omega = \sum p_i \cdot e_i, \quad (3)$$

где  $e_i$  — эффективность потребления энергии из среды растениями в  $i$ -м состоянии по отношению к таковой в состоянии  $g_2$ ;  $n_i$  — абсолютное число растений  $i$ -го возрастного состояния;  $p_i = n_i/n$  — их доля в данной популяции (выборке), где  $n = \sum n_i$  — общее число растений.

Л. А. Животовский предложил классификацию нормальных популяций, основанную на совместном использовании индексов возрастности  $\Delta$  и эффективности  $\omega$  (классификация «дельта-омега»). Он выделил следующие типы нормальных популяций: молодая, зреющая, переходная, зрелая, стареющая и старая (рис. 3.26).

Delta ( $\Delta$ )	1	Старая	Стареющая	
	0,55	Переходная		Зрелая
	0,35	Молодая	Зреющая	
	0	0,60		1
Omega ( $\omega$ )				

Рис. 3.26. Классификация «дельта — омега»

Для ценопопуляций особое значение имеют процессы самоподдержания. Л. А. Жуковой [Жукова, с. 22–23] были предложены два показателя, которые оценивают общую эффективность самоподдержания ценопопуляций:

— индекс восстановления ( $J_b$ ) — отношение плотности подростка к плотности генеративных растений. Показывает, какую часть генеративной фракции после ее отмирания способен восстанавливать подрост или сколько потомков в данный момент времени приходится на одну генеративную особь:

$$J_b = \frac{j + im + v}{g_1 + g_2 + g_3}, \quad (4)$$

где  $j$ ,  $im$ ,  $v$ ,  $g_1$ ,  $g_2$ ,  $g_3$  — возрастные состояния;

— индекс замещения ( $J_3$ ) выражается отношением плотности подростка ко всей взрослой части ценопопуляции:

$$J_3 = \frac{j + im + v}{(g_1 + g_2 + g_3) + (ss + s + sc)}, \quad (5)$$

где  $j$ ,  $im$ ,  $v$ ,  $g_1$ ,  $g_2$ ,  $g_3$ ,  $ss$ ,  $s$ ,  $sc$  — возрастные состояния.

**Цель работы** — определить тип возрастной структуры ценопопуляций.

**Материалы.** Таблица «Возрастная структура ценопопуляций (количество особей, шт.)»

**Ход работы.**

1. Используя данные, приведенные в табл. 3.28 и 3.33, и формулу (2), вычислить индекс возрастности ценопопуляции.
2. Используя данные, приведенные в табл. 3.28 и 3.33, и формулу (3), вычислить индекс эффективности ценопопуляции.
3. Используя данные, приведенные в табл. 3.28 и 3.33, и формулу (4), вычислить индекс восстановления.
4. Используя данные, приведенные в табл. 3.28 и 3.33, и формулу (5), вычислить индекс замещения.

**Представление результатов.** Сделать заключение о типе рассмотренных ценопопуляций по классификации «дельта-омега». Дать оценку общей эффективности самоподдержания ценопопуляций.

## Работа 5

### Пространственная структура ценопопуляций

Различают следующие основные способы распределения особей в пространстве:

— регулярное распределение — особи ценопопуляции расположены примерно на одинаковом расстоянии друг от друга. В природе такое распределение встречается редко. Встречается в культурфитоценозах (например, в посевах пропашных культур, в сквере с регулярно посаженными деревьями). Регулярное распределение растений со временем меняется из-за неравномерной элиминации растений в силу их разной жизнеспособности и конкуренции друг с другом. Нарушают регулярное распределение и внешние причины;

— случайное распределение — особи ценопопуляции в пространстве распределены случайно;

— групповое распределение (пятнистое, контагиозное) — особи в пространстве распределены группами (куртинами). Групповое распределение растений в сообществах обеспечивают, например, такие

особенности, как осыпание плодов вблизи материнского растения, вегетативное размножение и др.;

— клинальное распределение выражается в постепенном и направленном изменении плотности особей на определенной территории по градиенту какого-либо фактора. Главная причина такого размещения состоит в постепенном изменении в пространстве условий произрастания (например, по склону). Возможны разные варианты клинального распределения. Так, распределение может быть случайно-клинальным, когда вероятность появления особи в определенной точке постепенно меняется на территории (увеличивается или уменьшается), и контагиозно-клинальным — при постепенном изменении числа и размеров скоплений.

**Цель работы** — определить тип пространственного распределения популяции по отношению дисперсии ( $S^2$ ) к среднему числу особей на площадке.

**Материалы.** Растения (укосы), собранные на учетных площадках. Растения каждой учетной площадки (срезанные на уровне почвы и высушенные до воздушно-сухого веса) хранятся в отдельном пакете или, при небольших размерах, на гербарном листе).

**Ход работы.** Для определения типа распределения особей в пространстве необходимо определить число особей на каждой учетной площадке общей пробной площади.

Далее следует определить дисперсию ( $S^2$ ):

$$S^2 = \frac{\sum (x - m)^2}{n - 1},$$

где  $x$  — количество особей на площадке;  $m$  — среднее количество особей на площадке;  $n$  — число площадок.

Если дисперсия числа особей в выборках стремится к нулю ( $S^2/m < 1$ ), имеем дело с равномерным распределением. Если дисперсия близка к среднему арифметическому ( $S^2/m = 1$ ), это случайное распределение. Если же дисперсия намного больше среднего арифметического ( $S^2/m > 1$ ), то можно говорить о контагиозном (групповом) размещении особей.



На основе полученных данных построить диаграммы горизонтальной структуры ценопопуляций нарушенного сообщества и контроля:

- по числу особей/побегов (шт.) (рис. 3.27);
- по проективному покрытию (%) (рис. 3.28).

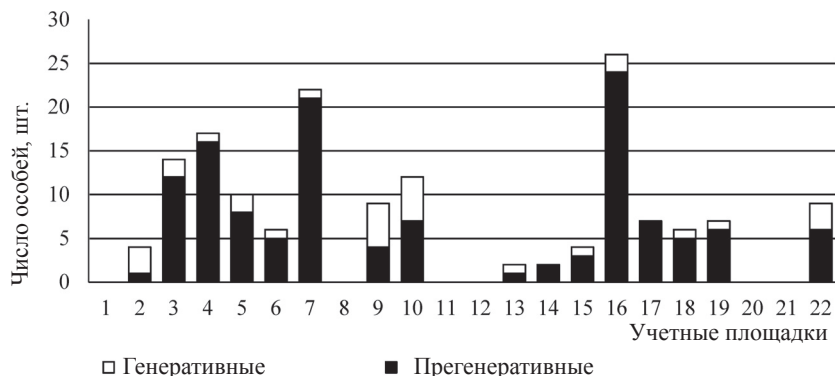


Рис. 3.27. Горизонтальная структура ценопопуляции *Erigeron acris* L.

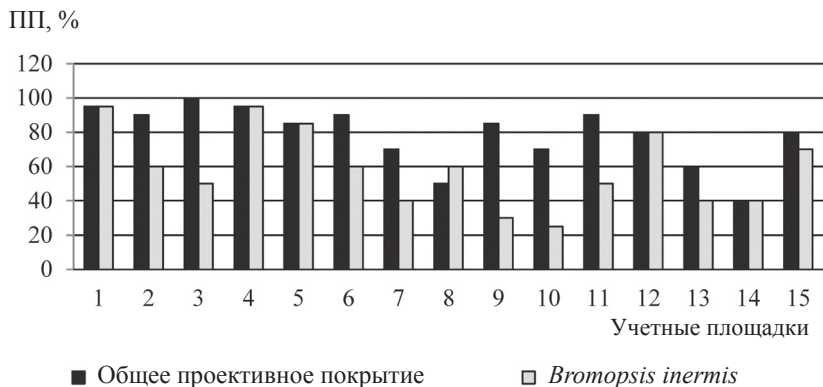


Рис. 3.28. Горизонтальная структура ценопопуляции *Bromopsis inermis* (Leyss.) Holub

**Представление результатов.** Заключение о горизонтальной структуре ценопопуляции и типе распределения особей в сообществе.

## Работа 6

### Определение посевных качеств семян

Способность любой ценопопуляции к самоподдержанию во многом зависит от посевных качеств семян. К показателям посевных качеств относят лабораторную всхожесть и энергию прорастания, зараженность болезнями и вредителями, массу 1000 семян и т. д. [ГОСТ 12038-84].

*Энергия прорастания семян* (дружность прорастания) — процент нормально проросших за определенный срок семян.

*Всхожесть семян* — количество нормально проросших семян в пробе, взятой для анализа, выраженное в процентах. Всхожесть семян определяют путем проращивания их при оптимальных условиях, установленных для каждой культуры.

*Зараженность семян* вредителями и болезнями также относится к показателям качества. Выражают в процентах как отношение массы зараженных семян к общей массе семян в пробе. Семена являются непригодными, если в анализируемых семенах обнаруживаются живые вредители и их личинки, головневые мешочки, галлы пшеничной нематоды.

*Массу 1000 семян* (в граммах) определяют в воздушно-сухом состоянии семян. Это один из важнейших показателей качества семян, который связан с выполненностью семян и количеством запасных веществ в эндосперме или семядолях. С массой семян связаны их способность к быстрому прорастанию, интенсивному росту и продуктивность растений.

*Примечание.* В соответствии с ГОСТом одни семена проращивают на фильтровальной бумаге, другие — на песке, третьи — на песке, покрытом фильтровальной бумагой. Песок и фильтровальную бумагу увлажняют непосредственно перед закладкой семян на всхожесть. Если семена проращивают на песке, то растильни предварительно наполняют увлажненным песком до  $\frac{2}{3}$  высоты и разравнивают. Если семена проращивают на фильтровальной бумаге, то ее нарезают соответственно размеру посуды и укладывают в 2–3 слоя. Если семена проращивают на фильтровальной бумаге и песке, то растильни или чашки Петри наполняют до половины песком и покрывают его сверху увлажненной фильтровальной бумагой.

**Цель работы** — определить посевные качества семян, используя показатели: энергию прорастания, всхожесть, зараженность и массу 1000 семян.

**Материалы и оборудование.**

1. Семена растений.
2. Чашки Петри.
3. Фильтровальная бумага.
4. Пинцет.
5. Дистиллированная вода.
6. Пипетка.
7. Маркер.
8. Лабораторные электронные весы Sartorius.

**Ход работы.**

1. Для определения энергии прорастания и всхожести семян на фильтровальной бумаге необходимо отобрать четыре пробы по 100 семян в каждой (опыт закладывают в четырех повторностях).

2. Сложить в два слоя фильтровальную бумагу в чашки Петри, залить ее дистиллированной водой так, чтобы была смочена бумага, но свободной воды почти не было.

3. На бумагу разложить (при помощи счетчика-раскладчика или вручную) равномерно по 100 семян так, чтобы они не соприкасались друг с другом. Чашку Петри закрыть крышкой. На крышке маркером отметить номер варианта, дату начала проращивания, даты определения энергии прорастания и всхожести.

*Примечание.* День закладки семян на всхожесть и день подсчета энергии прорастания или всхожести считают за одни сутки. Бумагу смачивают ежедневно, чтобы она была постоянно влажной.

4. Учет проросших семян для определения всхожести и энергии прорастания провести в сроки, установленные ГОСТом. Семя считается проросшим, если белый корешок виден из разрыва оболочки семени.

Через 3–7 суток (в зависимости от вида растения) подсчитать число проросших семян, удаляя их из чашки. Это будет энергия прорастания в процентах. Энергию прорастания семян вычислить

в процентах как среднее арифметическое результатов четырех проб (табл. 3.34).

Таблица 3.34

**Энергия прорастания семян вида, %**

Вариант	Повторность				
	I	II	III	IV	$X_{\text{ср}}$
А					
Б					

Через 7–12 дней подсчитать количество вновь проросших семян. Складывая их с числом энергии прорастания, получить всхожесть семян, выраженную в процентах.

*Примечание.* У культур со сроком проращивания семян свыше 10 дней проводят промежуточный подсчет проросших семян между определениями энергии прорастания и всхожести.

При подсчете проросших семян для определения энергии прорастания удаляют только нормально проросшие и явно загнившие семена.

При подсчете всхожести отдельно учитывают нормально проросшие, набухшие, твердые, загнившие и ненормально проросшие семена.

К невсхожим семенам относят:

а) набухшие семена, которые к моменту окончательного подсчета всхожести не проросли, но имеют здоровый вид и при надавливании пинцетом не разваливаются;

б) загнившие семена — с мягким разложившимся эндоспермом, с загнившим зародышем и семядолями, с почерневшим зародышем, с частично или полностью загнившими корешками;

в) твердые семена, которые к установленному сроку определения всхожести остались не набухшими и не изменили внешнего вида;

г) ненормально проросшие семена (с уродливыми ростками или корешками, или у которых при наличии ростка отсутствуют корешки и т. д.).

5. Всхожесть семян вычислить в процентах как среднее арифметическое результатов четырех проб (табл. 3.35).

Таблица 3.35

**Всхожесть прорастания семян вида, %**

Вариант	Повторность				
	I	II	III	IV	$X_{cp}$
А					
Б					

*Примечание.* При определении всхожести семян по четырем пробам допускается отклонение результатов отдельных проб от среднего арифметического на величины, не более указанных в табл. 3.36.

Таблица 3.36

**Допускаемые отклонения от среднего арифметического**

Среднеарифметический процент всхожести	Допускаемое отклонение, %	Среднеарифметический процент всхожести	Допускаемое отклонение, %
100–98	±2	84,9–80	±5,5
98,9–95	±3	79,9–70	±6
94,9–90	±4	69,9–60	±6,5
89,9–85	±5	59,9–50	±7

Если процент проросших семян одной из четырех проб отклоняется от процента всхожести на величину большую, чем допускаемое отклонение, то процент всхожести и энергии прорастания вычисляют по результатам трех остальных проб (без учета данных по четвертой пробе).

Чем меньше различий между энергией прорастания и всхожестью, тем выше качество семян.

6. При определении энергии прорастания и всхожести семян учесть также поражение семян плесневыми грибами.

*Примечание.* Средний процент пораженных семян определяют визуально по четырем пробам и устанавливают степень поражения в соответствии с табл. 3.37.

Таблица 3.37

### Степень поражения семян

Степень поражения семян	Семена, покрытые плесневыми грибами, %
Слабая	До 5
Средняя	До 2
Сильная	Более 25

7. Определить вес 1000 семян (г). Для этого взвесить две пробы по 100 семян. Затем необходимо сложить вес двух проб и умножить на 5.

**Представление результатов.** На основании полученных данных необходимо сделать заключение о посевных качествах исследуемых семян.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Назовите основные характеристики ценопопуляций.
2. Что такое плотность ценопопуляции?
3. Назовите основные типы пространственного распределения особей в растительных сообществах.
4. Назовите группы возрастных состояний в соответствии с классификацией, предложенной Т. А. Работновым.
5. Назовите основные качественные признаки, по которым особь растения относят к тому или иному возрастному состоянию.
6. Что такое возрастность особи?
7. Что такое индекс возрастности популяции?
8. Назовите типы нормальных популяций по классификации «дельта — омега» Л. А. Животовского.
9. Что такое индекс восстановления ценопопуляции?
10. Что такое индекс замещения ценопопуляции?

11. Какие показатели анализируются при определении посевных качеств семян?

### 3.8. БОТАНИЧЕСКАЯ МИКРОТЕХНИКА

Микротехника — это совокупность приемов, применяемых для получения микроскопических препаратов с последующим изучением их с помощью микроскопа. Освоение методики и техники получения постоянных и временных препаратов является необходимым условием для проведения исследований, связанных с проблемами экологического мониторинга в области экологической морфологии, экологической анатомии, цитозмбриологии и физиологии растений.

К настоящему времени по ботанической микротехнике в литературе накопились значительные сведения. Авторами излагаются общие приемы, касающиеся методов обработки материала для изготовления из него постоянных и временных препаратов. Однако изучение отдельных растительных тканей в связи с их специфическим строением и функциями требует некоторых изменений методики и уточнения основных приемов работы.

#### Работа 1

#### **Микроскоп и основные вспомогательные приборы**

**Цель работы** — изучить основные типы и марки микроскопов и основные вспомогательные приборы, применяемые в экологических исследованиях.

**Содержание работы.** Микроскоп представляет собой сложный оптический прибор, который дает увеличенное, обратное и мнимое изображения. Световой микроскоп увеличивает объект в 1000–1500 раз, а электронный — в 10 и 100 тыс. раз.

Любой микроскоп состоит из оптической и механической систем. Оптическая система микроскопа включает объектив, окуляр, конденсор, зеркало.

*Объектив* строит увеличенное, обратное и действительное изображение. Это наиболее важная часть микроскопа, именно от него зависят увеличение и четкость изображения. На объективе имеются цифровые и буквенные обозначения. Цифры 8, 20, 40, 90 указывают на собственное увеличение объектива. Цифры 0,2; 0,3; 0,4; 0,65; 0,75; 0,95 отвечают апертуре объектива. Апертура — действующее отверстие оптического прибора. Чем меньше числовое значение, тем большее отверстие имеется в виду. Апертура связана с разрешающей способностью микроскопа. Разрешающая способность — это то наименьшее расстояние, при котором две точки объекта различимы по отдельности. С ростом апертуры увеличивается разрешающая способность микроскопа. Следовательно, чем выше апертура объектива, тем более тонкую структуру объекта можно рассмотреть, но при этом уменьшается глубина резкости. Цифры 0,16–0,18 указывают на толщину покровного стекла, на которую рассчитан данный объектив. Ниже на объективе расположены цифры заводского номера, две первые — год выпуска микроскопа.

Буквы ВИ, МИ на объективе указывают на иммерсию среды (водную или масляную); АХРО, АПО, ПЛАН — обозначают категорию объектива, связанную с абберацией линз (недостатками, искажающими изображение). Объективы ахроматы дают плоское изображение, но, как правило, не передают цветовую гамму и слабо передают мелкую структуру объекта. Апохроматы дают искривленное поле зрения, они удобны при изучении деталей объекта. Планахроматы (полуахроматы) дают чрезвычайно плоское поле зрения, широко используются в микрофотографировании.

*Окуляр* дает прямое, мнимое и увеличенное изображения. При этом он только увеличивает построенное объективом изображение, но не выявляет в нем новых деталей. На практических занятиях будут использоваться окуляры с 7-, 10-, 15-кратным увеличением. Для более качественного изображения применяют специальные компенсационные окуляры с маркировкой «К» и «Ф». Последний используется в микрофотографии. Таким образом, одно и то же увеличение объекта можно получить при разных наборах окуляров и объективов. Например, 100-кратное увеличение можно получить при таком наборе, как в табл. 3.38.



**Набор для получения 100-кратного увеличения**

Объектив с увеличением	25	20	10	5
Окуляр с увеличением	4	5	10	25

Учитывая, что с разрешающей способностью микроскопа связан объектив, а окуляр лишь увеличивает объект, целесообразнее выбирать первую пару ( $25 \times 4$ ).

*Конденсор* с апертурной диафрагмой служит для наилучшего освещения изучаемого объекта. Изменением положения конденсора и размера апертурной (ирисовой) диафрагмы регулируют количество и угол наклона световых лучей, падающих на объект. Увеличение диаметра отверстия диафрагмы уменьшает освещение объекта, но увеличивает глубину резкости. Конденсор позволяет осветить объект широко расходящимся пучком лучей, что особенно необходимо при работе с большим увеличением. Конденсор обычно имеет апертуру 1,2–1,4.

*Зеркалом* оснащали первые модели микроскопа. Оно служило для направления лучей от источника света в конденсор. Зеркало имеет плоскую и вогнутую поверхность. Плоская сторона используется при работе с искусственным источником света, расположенным близко от микроскопа, вогнутая — при использовании естественного освещения и при работе с большим увеличением.

Механическая часть микроскопа состоит из основания (подставки), механизма микроскопической фокусировки, предметного столика, кронштейна конденсора, тубусодержателя с механизмом макрометрической фокусировки, тубуса и револьвера.

Среди световых микроскопов различают биологические, которые применяются для изучения микроскопических объектов в биологии, медицине, сельском хозяйстве; металлографические и петрографические, используемые для изучения различных материалов. Биологические микроскопы представляют собой самую распространенную по количеству моделей группу приборов. Они отличаются друг от друга по конструкции и по комплектam оптики и принадлежностей.

В России наиболее распространены биологические микроскопы фирмы «ЛОМО» [АО «ЛОМО»]. Они выпускались в нескольких сериях. Первые микроскопы имели маркировку МБ — микроскоп биологический. Микроскопы серии «Дорожные» с маркировкой МБД-1, МБД-2, МБД-3 удобны тем, что их можно транспортировать в специальном чемоданчике. Серия «Студенческие» применяется в основном в учебных целях. Самая разнообразная серия «Рабочие» — микроскопы с маркировкой МБР-1, МБР-2, МБР-3, МБР-4, МБР-5, МБР-6. Различия между микроскопами одной серии состоят в комплектации микроскопа вспомогательными устройствами: осветителями, бинокулярной насадкой, типом предметного столика и наличием препаратоводителя. Перечисленные микроскопы снабжены объективом малого ( $\times 8$ ) и большого увеличения ( $\times 20$ ,  $\times 40$ ) и имеют иммерсионные объективы ( $\times 90$ ), в наличии — набор окуляров  $\times 7$ , 10, 15.

В настоящее время серия «Рабочие» сменилась на серию «Биолам», микроскопы которой имеют новое конструктивное оформление основания и тубусодержателя, а также дополнительно снабжены встраиваемым осветителем (рис. 3.29, а). Микроскопы серии «Биолам» бывают рабочими («Биолам Р»), студенческими («Биолам С»), дорожными («Биолам Д») и исследовательскими («Биолам И»). Отличаются они по комплектам предметных столиков, визуальных насадок, наборам объективов и окуляров, осветительных устройств. Серия «Микмед»: микроскопы с маркировкой Микмед-1, Микмед-3, Микмед-5 снабжены встроенным в основание осветителем, имеют модульную конструкцию и могут быть дополнены рядом приспособлений, расширяющих возможности исследований объектов. Это устройство фазового контраста КФ-4, конденсор темного поля ОИ-13 для освещения объектов по методу темного поля, апланатический конденсор прямого и косого освещения ОИ-14, комплект фильтров для работы в поляризационном свете, осветитель отраженного света ОИ-21, люминисцентный осветитель ОИ-28, а также адаптер для установки малогабаритных камер. Различия между микроскопами этой серии состоят в габаритных размерах, наборе объективов и окуляров и размещении источника электропитания, который у Микмед-3 и Микмед-5, в отличие от Микмед-1, встроен в основание микроскопа.

Для исследования объемных объектов при относительно небольшом увеличении (до 120 раз) используют стереоскопические микроскопы, конструкция которых позволяет видеть объект исследования правым и левым глазом под разными углами. Они дают прямое и объемное изображение объекта, обеспечивая при этом довольно широкое поле зрения. Стереоскопические микроскопы используют для изучения объектов с поверхностей, а главное — в целях препарирования (завязь, пыльник, верхушечные и пазушные почки побегов травянистых и древесных побегов). Фирма «ЛОМО» выпускала микроскопы биологические стереоскопические МБС-1, МБС-2, МБС-9, МБС-10. Эти микроскопы имеют бинокулярную насадку, объективы  $\times 0,6$ ,  $\times 1$ ,  $\times 2$ ,  $\times 4$ ,  $\times 7$ , окуляры  $\times 6$ ,  $\times 8$ ,  $\times 12,5$ , а микроскопы МБС-9 и МБС-10 имеют встроенные осветители. В дополнительной комплектации к ним может прилагаться тринкулярная насадка, на которую устанавливается фотоадаптер.

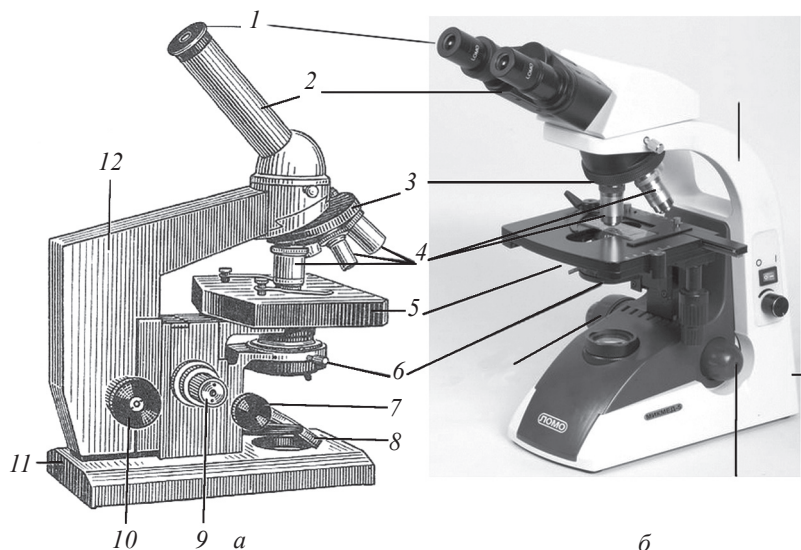


Рис. 3.29. Микроскопы «Биолам Р» (а) и «Микмед-5» (б)  
[Паушева; АО «ЛОМО»]:

1 — окуляр; 2 — тубус; 3 — револьвер; 4 — объективы; 5 — столик; 6 — конденсор;  
7 — винт конденсора; 8 — зеркало; 9 — микрометрический винт; 10 —  
макрометрический винт; 11 — основание; 12 — тубусодержатель

Современными аналогами биологических стереоскопических микроскопов служат микроскопы стереоскопические *панкратические*. Они выпускаются в маркировках МСП-1, МСП-2. Каждая маркировка имеет несколько вариантов исполнения, отличающихся конструктивным оформлением основания, колонки с фокусирующим механизмом, объектива, визуальной насадки и т. п. Отличительная особенность МСП — это наличие панкратических объективов с зум-системой, позволяющих в процессе наблюдений плавно изменять увеличение. Аналогичной системой снабжены стереоскопические микроскопы зарубежных производителей.

Самыми совершенными из отечественных биологических микроскопов являются микроскопы МБИ и «Биолам И». Это универсальные микроскопы, предназначенные для исследовательских целей. Они имеют многочисленные дополнительные устройства: осветитель, фотонасадку, темнопольный конденсор, устройство для фазового контраста, люминесцентное освещение и др. Микроскопы содержат большой набор объективов для малого и большого увеличения, разнообразные окуляры. Маркировки микроскопов МБИ: МБИ-1, МБИ-6, МБИ-15. Последние два микроскопа стационарные, имеют собственный стол с набором ЗИП.

Среди зарубежных производителей световых микроскопов наиболее известными являются Leica Microsystems, Karl Zeiss, Nikon и Olympus. Они выпускают микроскопы в нескольких сериях: обучающие, рабочие, лабораторные и исследовательские. Первые две серии микроскопов предназначены для рутинных работ, имеют малогабаритные размеры и стандартную комплектацию, во многом аналогичную отечественным рабочим микроскопам. Лабораторные микроскопы в дополнительной комплектации снабжены устройствами для фазового контраста, флуоресценции, поляризации, темного поля и т. д. Маркировки этих микроскопов: Leica DME, Leica CME (производитель Leica Microsystems), Axioscop (производитель Karl Zeiss). Исследовательские микроскопы отличаются более качественной оптикой, в дополнительной комплектации снабжены фото- или видеокамерой высокого разрешения, набором специальных объективов (для флуоресцентной, поляризационной микроскопии и т. д.), компьютерной рабочей станцией, специализированным

программным обеспечением и моторизированной системой управления освещением, фокусировкой, смены фильтров и т. д. Маркировки этих микроскопов: Leica DM 5000, Leica TMA 6000, Axioscop 2 plus и т. д.

Устройство современного исследовательского микроскопа Leica DM 5000 представлено на рис. 3.30. Данная марка микроскопа применяется для изучения биологических объектов методами светлого поля и флуоресценции. В дополнительной комплектации можно установить устройства для фазово-контрастной, поляризационной и темнопольной микроскопии.

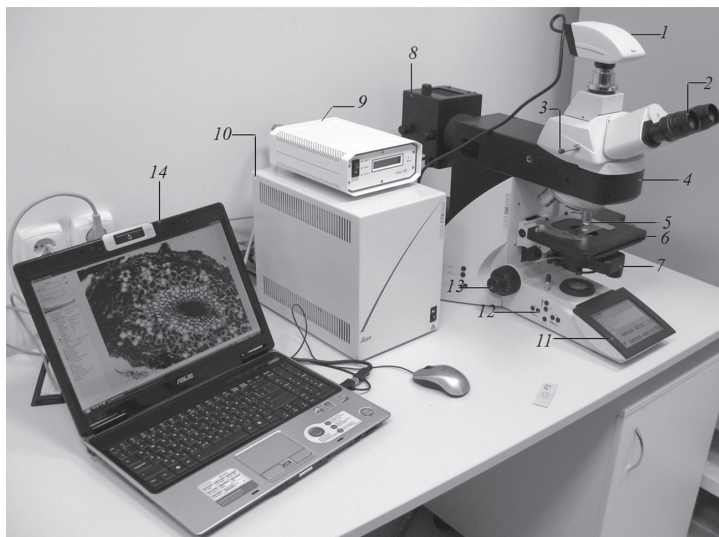


Рис. 3.30. Микроскоп Leica DM 5000:

1 — видеокамера; 2 — окуляр; 3 — ручка смены направления луча на окуляры или камеру; 4 — блок для кубика фильтров отраженного света; 5 — объектив; 6 — предметный столик; 7 — конденсор; 8 — осветитель отраженного света; 9 — блок питания для ртутной лампы; 10 — блок питания для галогенной лампы; 11 — жидкокристаллический дисплей; 12 — функциональные клавиши; 13 — винты микро- и макрометрической настройки; 14 — компьютер

Тубус микроскопа — тринокулярный с фотоадаптером для фото- или видеокamеры. На фотоадаптер установлена цветная цифровая видеокамера высокого разрешения. Она подсоединена к компьютеру,

на монитор которого транслируется изображение в режиме реального времени. В комплект входят два окуляра  $\times 10$ . Слева на тубусе расположена ручка смены направления луча на окуляры или камеру. Под тубусом находится блок для кубика фильтров отраженного света. Фильтры меняются в автоматическом режиме. Револьвер микроскопа имеет шесть гнезд, прилагаются объективы ПЛАН:  $\times 5$ ;  $\times 10$ ;  $\times 20$ ;  $\times 40$ ;  $\times 100$  Oil — масляная иммерсия. Предметный столик снабжен препаратоводителем. Под ним располагается конденсор. Микроскоп имеет два осветителя: с ртутной лампой для флуоресцентной микроскопии и галогенной лампой для светлопольной микроскопии. Каждый осветитель подключен к соответствующему блоку питания 9, 10.

Управление освещением осуществляется при помощи жидкокристаллического дисплея или функциональных клавиш, которые расположены на боковой стенке основания. Удобнее настраивать освещение при помощи жидкокристаллического дисплея, на котором имеются следующие клавиши.

**Методы световой микроскопии.** Световая микроскопия не утратила своего значения в наши дни. Несмотря на успехи электронной микроскопии, она является основным и незаменимым методом в анатомических и цитоэмбриологических исследованиях, применяемых в биологии и экологии.

Изображение в световом микроскопе формируется вследствие того, что объект и различные его элементы избирательно поглощают свет с различной длиной волны или вследствие изменения фазы световой волны при прохождении света через объект. Световая микроскопия включает широкопольную (светлопольную), темнопольную, фазово-контрастную, интерференционную, инфракрасную, флуоресцентную (люминесцентную), ультрафиолетовую, поляризационную и конфокальную микроскопии. В основе всех этих методов лежат различные свойства света. Классификация световой микроскопии базируется на способах освещения объекта (проходящим или отраженным светом) и свойствах света. В обычном проходящем свете исследуются объекты методами широкопольной, фазово-контрастной, интерференционной микроскопий. Темнопольная микроскопия позволяет изучать объекты как

в проходящем, так и в отраженном свете. Флуоресцентная, ультрафиолетовая и конфокальная микроскопии основаны на освещении объекта проходящим или отраженным, ультрафиолетовым или голубым светом. Проходящий инфракрасный свет используется в инфракрасной микроскопии. Метод поляризационной микроскопии основан на применении проходящего и отраженного поляризованного света.

### **Основные вспомогательные приборы**

**Осветитель.** Получение точного изображения изучаемого объекта во многом зависит от условий освещения. Наилучшие условия освещения позволяют максимально использовать оптические возможности микроскопа. В микроскопической технике раньше использовали осветители типа ОИ-9, ОИ-19, которые прилагались к микроскопу как дополнительное устройство. В настоящее время осветитель встраивают в корпус микроскопа. Настройка рационального освещения по Келлеру для переносных и встроенных осветителей осуществляется по единой схеме:

1. Закрыть полевую диафрагму осветителя и апертурную диафрагму конденсора микроскопа, поднять конденсор впритык к предметному столику и вынуть матовое стекло.
2. Получить четкое изображение нитей лампы на лепестках апертурной диафрагмы конденсора, добиться расположения нитей в центре диафрагмы.
3. Вынуть окуляр и поворотом зеркала совместить изображение полевой диафрагмы (светящуюся точку) с центром поля зрения.
4. Открыть полевую диафрагму осветителя и открывать апертурную диафрагму до тех пор, пока ее изображение не займет  $2/3$  поля зрения.
5. Вставив окуляр и матовое стекло, с помощью реостата осветителя установить нужную яркость освещения.

При переходе к работе с другим объектом следует закрыть полевую диафрагму и проверить установку света.

**Рисовальный аппарат РА-4.** Для зарисовки изображений, получаемых в микроскопе, используют рисовальный аппарат типа РА-4, который надевается на тубус микроскопа. Рисовальный аппарат



состоит из призмы-кубика с набором светофильтров и плоского зеркала, которые плотно соединены друг с другом при помощи штанги длиной около 13 см.

Принцип работы с рисовальным аппаратом заключается в совмещении лучей, идущих от объекта под микроскопом и от плоскости бумаги, в результате чего глаз получает возможность одновременно воспринимать увеличенное изображение и плоскость бумаги. Это обеспечивается призмой-кубиком и расположением зеркала под углом к штанге в  $45^\circ$ . Лучи от препарата, проходя через микроскоп и призму-кубик, воспринимаются глазом. Лучи, идущие от бумаги, сначала попадают на зеркало, затем, отражаясь от него под углом в  $45^\circ$ , попадают в призму-кубик, где еще раз отражаются и воспринимаются глазом одновременно с лучами от объекта.

Обязательным условием четкой видимости изображения и поверхности бумаги является равенство яркости их освещения. Если поле зрения освещено ярче бумаги, то изображение видно хорошо, а кончик карандаша на поверхности бумаги будет едва замечен или совсем не виден. При обратном соотношении видны карандаш и бумага, а изображение отсутствует или становится едва заметным.

Порядок работы с рисовальным аппаратом:

1. Ослабить винт кольца рисовального аппарата и надеть его на тубус микроскопа, из которого предварительно вынуть окуляр.

2. Вставить окуляр на прежнее место и с помощью винта закрепить аппарат на микроскопе так, чтобы его откидная часть была расположена параллельно глазной линзе окуляра и почти соприкасалась с ней.

3. Зеркало рисовального аппарата поместить с правой стороны микроскопа, а под него положить лист бумаги. При вертикальном тубусе плоскость бумаги должна быть параллельной плоскости стола, а при наклонном — располагаться под углом, обеспечивающим ее перпендикулярность к оси тубуса. В последнем случае удобно пользоваться специальным рисовальным столиком с наклоненной плоскостью.

4. Отбросив откидную часть аппарата, навести объект на фокус и осветить его источником направленного света, после чего снова опустить откидную часть на тубус.



5. Выровняв интенсивность освещения поля зрения и бумаги, добиться четкой видимости увеличенного изображения объекта и кончика карандаша на бумаге. Уравновешивание степени освещения производится изменением интенсивности источника света и за счет наборов светофильтров, имеющихся в откидной части рисовального аппарата.

6. Смотреть через линзу рисовального аппарата в микроскоп и, видя изображение объекта, совмещенное с бумагой, обвести объект карандашом.

7. Дорисовывать детали и заканчивать рисунок следует без рисовального аппарата, отбросив его откидную часть.

8. Определить увеличение изображения объекта на рисунке с помощью объект-микрометра. Пользуясь тем же рисовальным аппаратом, на бумаге рядом с рисунком объекта рисуют шкалу объект-микрометра или ее часть

**Винтовой окулярный микрометр.** Линейное измерение микроскопических объектов производится винтовым окулярным микрометром МОВ-1 — 15×; МОВ-1 — 16×. Он состоит из корпуса, окуляра и вращающего барабана со ста делениями при цене деления 0,01 мм (10 μ). В окуляр вмонтированы неподвижная шкала с восемью делениями по 1 мм каждое и подвижная сетка, представленная перекрестием и двумя штрихами.

Измерение производится так, что перекрестие подводят к одному краю измеряемого объекта, отмечая отсчет по шкале и барабану, затем переводят его к другому краю и вновь производят отсчет. Разность между двумя отсчетами по барабану и дает длину объекта при данном увеличении объектива. Чтобы определить истинные размеры объекта, нужно полученную разность отсчетов умножить на линейное увеличение объектива. Линейное увеличение объектива определяют путем калибровки окулярной шкалы микроскопа при помощи объект-микрометра. Объект-микрометр представляет собой пластину, в центре которой находится измерительная шкала длиной 1 мм с ценой деления 0,01 мм. Объект-микрометры изготавливаются для микроскопов отраженного и проходящего света. Соответственно они называются «объект-микрометр ОМО» и «объект-микрометр ОМП».

Определение линейного увеличения объектива ( $\beta$ ) удобно проводить в следующей последовательности:

1. Установить объект-микрометр на предметный столик микроскопа, поймать изображение его шкалы.

2. Вынуть из тубуса микроскопа окуляр и надеть на него винтовой окулярный микрометр, закрепив винтом.

3. Совместить перекрестие винтового окулярного микрометра с одним из длинных делений объект-микрометра в правой части поля зрения микроскопа и записать показания по шкале и барабану винтового окулярного микрометра ( $A$ ).

4. Вращая барабан винтового окулярного микрометра по часовой стрелке, совместить его перекрестия с одним из длинных делений объективного микрометра в левой части поля зрения микроскопа и снова записать показания по шкале окулярного микрометра ( $B$ ).

5. Сосчитать число делений по шкале объективного микрометра между первым и вторым замерами.

6. Полученные данные подставить в формулу

$$\beta = \frac{(A - B)}{Z \cdot \alpha},$$

где  $\beta$  — линейное увеличение объектива;  $A - B$  — разность отсчетов по шкале винтового окулярного микрометра;  $Z$  — число делений объективного микрометра, полученных при измерении;  $\alpha$  — цена деления шкалы объективного микрометра.

Таким способом определяется линейное увеличение объектива не менее 3 раз. Среднее значение будет окончательной цифрой. Линейное увеличение определяется для каждого объектива, входящего в комплект данного микроскопа.

**Представление результатов.** Оценить качество изображения разных марок биологических микроскопов путем сравнения микропрепаратов. Представить рисунок фрагмента поперечного среза хвои сосны, сделанный с помощью рисовального аппарата, и размеры клеток мезофилла (высота и ширина) при малом и большом увеличении микроскопа.

## Работа 2

### **Приборы для изготовления анатомических срезов.**

#### **Методика изготовления анатомических срезов на замораживающем микротоме**

Для подавляющего числа микроскопических исследований требуется изготовить прозрачные срезы толщиной 3–5 мкм. Для этого используются специальные приборы — *микротомы*. Они позволяют получать быстро и относительно безопасно большое количество срезов заданной толщины. Конструкции их разнообразны. По принципу работы выделяют *санные, или салазочные, ротационные, дисковые микротомы и вибраторы*. Кусочки ткани, из которых готовят срезы на микротоме, должны быть плотнее, чем свежая или фиксированная ткань. Уплотнить материал можно заливкой в плотные застывающие среды (парафин, воск, желатин, целлоидин) или замораживанием. Для замораживания тканей используют замораживающий столик, подсоединенный к охладителю, или криостат. Если микротом снабжен системой охлаждения, то он называется *замораживающим*.

#### **Санный микротом**

В санных микротоме объект, помещенный на столике, перед каждым движением ножа автоматически поднимается на заданную высоту (толщину среза), а нож движется по ножевым салазкам в горизонтальном направлении (рис. 3.31). Основу корпуса санного микротоме составляет станина. Это металлическая пластина, закрепленная на неподвижном основании. На верхней горизонтальной поверхности станины продольно располагаются две или три шлифованные полосы (рельсы), по которым движется нож, закрепленный в ножевых санках. Боковые движения ножевых санок ограничены. Станина массивна, она фиксируется к столу и обеспечивает устойчивость прибора при работе. На боковой поверхности станины располагаются шлифованные рельсы для движения объектных санок. Объектные санки движутся обычно по наклонной плоскости вверх, выдвигая при каждом движении ножа объект на заданное число микрометров.

Толщина среза, т. е. степень подъема объектодержателя, определяется микровинтом. Микровинт движется в наклонной или вертикальной плоскостях и имеет вид металлического стержня. Он связан с градуированным приспособлением, каждое деление которого соответствует продвижению зубчатого колеса на один зубчик, и продвигает объектодержатель вверх на 1 мкм. Шкала делений позволяет задавать необходимую толщину среза (от 1 до 30 мкм). Ножевые санки имеют скользящие по станине поверхности и зажим для ножа. На боковой поверхности ножовые санки имеют рукоятку, которая позволяет продвигать их по станине. Зажимы для ножа могут иметь различную конструкцию, но всегда необходимы для закрепления ножа под определенным углом к объекту.

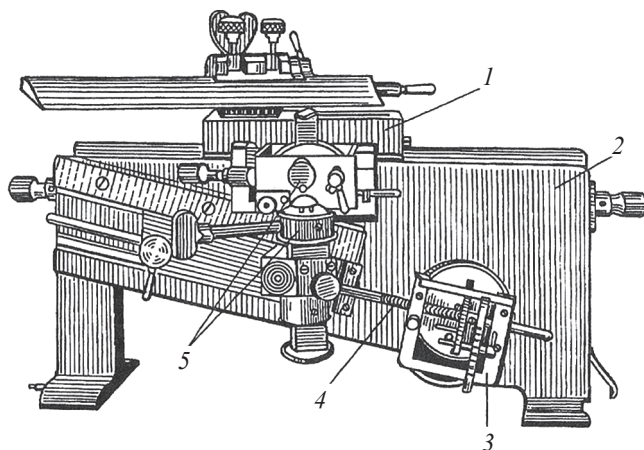


Рис. 3.31. Микротом санный [Паушева]:

1 — ножедержатель; 2 — станина; 3 — рамка с ограничителем; 4 — микрометрический винт; 5 — объектодержатель

Отечественные производители выпускают санные микротомы с маркировкой МС. На российском рынке также распространены марки зарубежных производителей: НМ 430, НМ 450 (фирма Karl Zeiss), Leica RM (фирма Leica Microsystems). Современные санные микротомы имеют моторизированную систему подачи, систему ретракции, они программируются, параметры настройки выводятся на цифровой дисплей. Выпускаются программируемые

моторизированные санные микротомы для больших и особо твердых объектов.

### Ротационный микротом

Ротационные микротомы часто используются для изготовления серийных парафиновых срезов. В ротационных микротоме неподвижен укрепленный наклонно нож. Объектодержатель с закрепленным блоком движется в вертикальной плоскости, наезжая на нож (рис. 3.32).

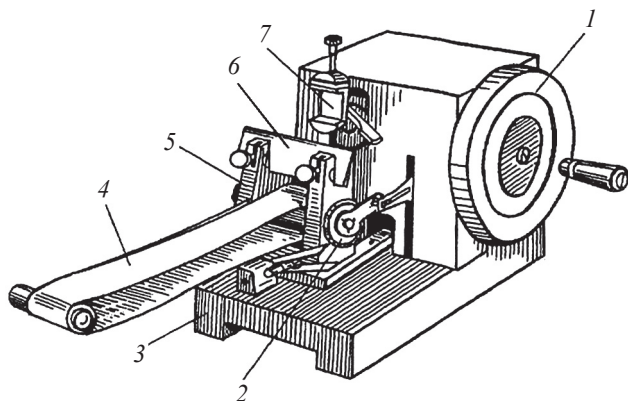


Рис. 3.32. Микротом ротационный [Паушева]:

1 — маховик; 2 — механизм подачи объектодержателя; 3 — станина; 4 — транспортная лента; 5 — ножедержатель; 6 — нож; 7 — объектодержатель

Российский производитель выпускает ротационный микротом марки «Ротмик-1», который по техническим характеристикам аналогичен зарубежным маркам HM 335E (фирма Karl Zeiss). Некоторые марки, например HM 200-Ergostar (фирма Karl Zeiss), сочетают линейное горизонтальное движение ручного привода (как в санном микротоме) при вертикальном перемещении образца.

Принцип работы *дискового микротом* состоит в спиралевидном движении образца, зафиксированного на вращающемся диске. Такие микротомы сочетают высокое качество срезов санного микротом с возможностью серийных срезов ротационного микротом. Следует

заметить, что в дисковом микротоме используются только одноразовые ножи и образцы на кассетах.

Основной принцип работы *вибратома* — обеспечение вибрации режущего лезвия в горизонтальной плоскости с частотой 50 Гц. Это позволяет готовить срезы из свежefиксированного, не залитого в плотные среды материала, что особенно важно при проведении иммуноцитохимических или срочных традиционных исследований. Разрешающая способность этого метода снижается тем, что вибратором часто не позволяет готовить срезы толщиной менее 50 мкм. Кроме того, требуется достаточно «жесткая» фиксация, обеспечивающая минимальную плотность нарезаемого кусочка. Качество срезов ухудшается по мере увеличения их площади. Избежать этих недостатков можно регулированием амплитуды движения лезвия и скорости резания. С этой же целью кусочки материала можно покрывать желатиновой или агаровой оболочкой.

### **Замораживающий микротом**

Для резки на замораживающем микротоме уплотнение материала достигается замораживанием, поэтому заливка в плотные среды не требуется. Можно готовить также срезы из фиксированного, залитого в водорастворимые среды материала. Особенностью замораживающих микротомов является то, что объектодержатель (замораживающий столик) снабжен системой охлаждения. Охлаждающий эффект может обеспечиваться хладагентом (углекислотой, хлорэтилом, фреоном и др.), который подается в камеру объектодержателя из баллона. На современных микротоме чаще используется термоэлектрический принцип. При этом одна сторона столика охлаждается, а другая при пропускании постоянного тока через полупроводниковый элемент — нагревается. На замораживающую сторону помещается объект резки, противоположная сторона должна быть обеспечена системой охлаждения. Чаще это проточная вода, подаваемая через систему шлангов. В связи с тем что замораживание не обеспечивает необходимую твердость при сохранности эластичности материала, на замораживающем микротоме практически невозможно получить срезы тоньше 10 мкм. Кроме того, в таких устройствах охлаждается только объектодержатель, нож при этом

остается теплым. При попадании на него срезы оттаивают, легко сминаются. Становится трудоемкой их дальнейшая обработка. Этим недостатком лишены криостаты.

*Криостаты* — это специальные охлаждающие камеры, способные поддерживать отрицательные температуры (до  $-65^{\circ}\text{C}$ ), снабженные микротомом, специальными отверстиями для рук или системой дистанционного управления, системой освещения и визуального наблюдения (окошечко).

### Устройство современного замораживающего микротомата на примере МЗП-01 «Техном»

Микротом МЗП-01 «Техном» (Россия) предназначен для получения срезов из тканей с парафиновой, целлоидиновой, гистопластовой заливкой, а также замороженных тканей. Схема данной марки микротомата представлена на рис. 3.33.

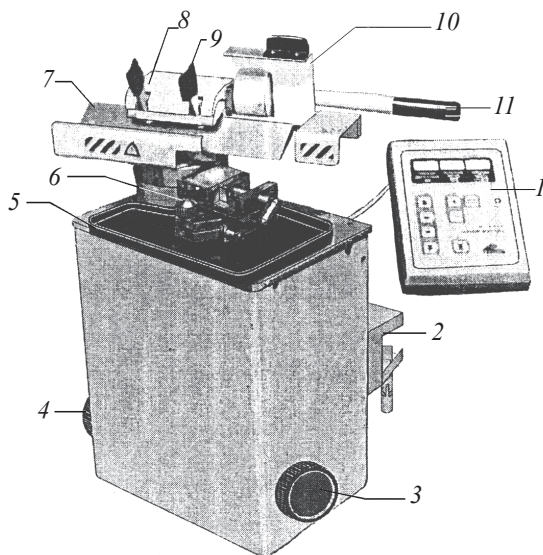


Рис. 3.33. Микротом МЗП-01 «Техном»:

1 — пульт управления; 2 — трубка крепления; 3 — ручка ускоренного вертикального перемещения; 4 — ручка стопора вертикального перемещения; 5 — лоток; 6 — держатель блока; 7 — нож; 8 — держатель ножа; 9 — винт держателя ножа; 10 — ограждение ножа; 11 — ручка узла поворота ножа

Управление работой микротомы осуществляется при помощи пульта. Разъем для подключения пульта управления находится на задней стенке корпуса. Там же располагаются выключатель питания, шнур питания сети и трубки для закрепления микротомы на столе. Слева на корпусе расположена ручка ускоренного вертикального перемещения держателя блока, справа — ручка стопора механизма ручной подачи. На верхней части корпуса микротомы размещены лоток для сбора парафиновой стружки, траверса и узел поворота ножа. В зависимости от методов получения срезов на траверсу устанавливается либо держатель блоков парафиновой заливки, либо замораживающий столик. При движении ножа в обратном направлении держатель блока опускается на несколько микрометров, что предохраняет поверхность очередного среза от повреждений нижней кромкой ножа. Такой режим работы микротомы называется откатом или ретракцией. Держатель ножа крепится на узле поворота и оснащен указателем угла наклона, закрепляющими винтами, ограждением ножа и ручкой поворота. Ручка поворота подпружинена в вертикальной плоскости во избежание давления руки лаборанта на держатель ножа, что повышает воспроизводимость толщины срезов.

На *пульте управления микротомы* располагаются цифровой дисплей и клавиши. На дисплее пульта отражаются величина вертикального перемещения лотка с траверсой, толщина срезов (в мкм), счетчик, показывающий число срезов.

Назначение клавиш пульта управления:



— быстрый подъем держателя ткани








— медленный подъем держателя ткани для ее точной подводки под нож



— медленное опускание держателя ткани для ее точной подводки под нож



- 
 — быстрое опускание держателя ткани
- 
 — опускание держателя ткани вниз до упора
- 
 — установление толщины срезов через 1 мкм
- 
- 
 — обнуление табло счетчика числа срезов

Для замораживания тканей используют термоэлектрический охладитель микротомов ОМТ 28-02 «Е» (рис. 3.34).

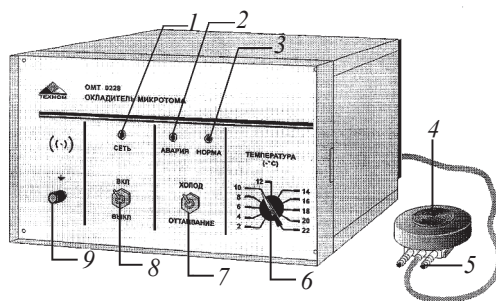


Рис. 3.34. Термоэлектрический охладитель:

1 — индикатор включения сети; 2 — световой индикатор «Авария»; 3 — световой индикатор «Норма»; 4 — замораживающий столик; 5 — штуцер подключения к водяному охлаждению; 6 — переключатель температуры; 7 — переключатель режима работы на холод или оттаивание; 8 — включатель питания сети; 9 — клемма заземления

Он состоит из блока управления и замораживающего столика. На лицевой панели блока управления установлены индикатор питания сети, индикатор «Авария», индикатор выхода на режим «Норма», включатель питания сети, переключатель температуры, переключатель режима работы на холод или оттаивание, клемма заземления. Замораживающий столик имеет водоохлаждаемый теплообменник, поверх которого расположен термоблок с рабочей площадкой столика. Теплообменник имеет два штуцера для подключения к магистрали водяного охлаждения.

Порядок работы.

1. Закрепить микротом струбцинами к лабораторному столу.
2. Подсоединить пульт управления к микротому.
3. Подсоединить микротом и блок управления охладителя к сети.
4. Подключить заземляющий проводник к клемме заземления блока управления охладителя.

5. Закрепить охлаждающий столик гайками на traversе микротом.

6. Проверить крепление ножа в держателе и установить угол наклона ножа.

7. Подсоединить к теплообменнику охлаждающего столика резиновые трубки. Одну трубку соединить с краном водопровода, другую вывести в сливную магистраль.

### ***Внимание!***

*Теплообменник следует подключать только к холодному водоснабжению.*

8. Пустить воду с расходом не менее 3 л/мин.
9. Установить требуемое значение температуры на переключателе температуры блока управления.
10. Установить выключатели микротом и блока управления охладителя в положение «Вкл.».
11. Переключатель режима блока управления поставить в положение «Холод».
12. Дождаться свечения индикатора «Норма» и звукового сигнала.
13. Произвести резку материала.

14. После получения необходимого количества срезов включить режим «оттаивание». За время не более 30 с рабочая площадка столика нагреется до температуры +2 °С. После этого препарат может быть удален со столика.

15. По окончании работы:

- отключить блок управления охладителя;
- закрыть подачу воды;
- отключить микротом;
- вытереть насухо охлаждающий столик.

### ***Запрещается!***

1. *Отключать воду во время работы охладителя.*
2. *Разливать воду по охлаждающему столику.*
3. *Устранять самостоятельно неисправности приборов.*

## **Получение срезов**

Изготовление замороженных срезов не требует специальной подготовки материала. Резку можно начинать сразу после его сбора, что очень удобно для экспресс-методик. Однако метод замораживания имеет свои ограничения и недостатки. Практически невозможно резать на замораживающем микротоме рыхлые, распадающиеся ткани; замороженные срезы имеют толщину не менее 10 мкм, в то время как образцы, залитые в плотные среды, могут подвергаться более тонкой нарезке. Замороженные срезы трудоемки в окрашивании, более ломкие.

Для заморозки объекта его переносят на замораживающий столик. Рекомендуется перед замораживанием промыть объект от фиксирующей жидкости водопроводной водой в течение 10–15 мин. Монтирование объекта на замораживающий столик для последующей резки удобнее всего производить методом закапывания. Укрепление объекта выполняется в следующей последовательности:

1. Установить требуемую температуру (от –2 до –22 °С) для заморозки объекта переключателем охладителя. Температуру заморозки определяют предварительно на пробных срезах. При пере замораживании срезы крошатся, ломаются, а при недостаточной заморозке — соскабливаются.

2. Дождаться свечения индикатора «Норма» и звукового сигнала охладителя.

3. Сформировать объект. Придать ему определенную форму и величину лезвием безопасной бритвы.

4. Погрузить объект в холодную воду на 1–2 с и прижать к замораживающему столику, причем постараться сориентировать объект так, чтобы он располагался перпендикулярно положению ножа. Если объект не удалось сориентировать перпендикулярно положению ножа, необходимо поставить переключатель охладителя в режим оттаивания, дождаться звукового сигнала и отделить оттаявший объект от замораживающего столика.

5. Для быстрого, равномерного и экономного замораживания материала можно, после примораживания кусочка, накрыть его металлическим или пластиковым колпачком.

6. После примораживания объекта его начинают закапывать водой. Капли воды переносят на объект стеклянной палочкой. Чтобы капли не скатывались и не заливали замораживающий столик, каждую из них следует наносить после застывания предыдущей. Только тогда они могут удержаться на ледяном блоке, окружаем объект. Капать следует до тех пор, пока объект не будет покрыт достаточным слоем льда.

Срезы получают при следующей последовательности действий:

1. Вставить нож в держатель. Установить нужный наклон ножа и отодвинуть его назад. Поднять ограждение ножа. Установить подачу микротомы на нужное число микрон с помощью клавишей «+» и «-» пульта управления микротомы. Толщина срезов должна превышать 10 мкм, иначе они получатся некачественными.

2. С левой стороны разместить подложку со стеклами, с правой — кисточку, иголку, марлевую салфетку.

3. С помощью клавиши быстрого подъема, а затем медленного подъема пульта управления микротомы установить объект так, чтобы верхушка его соприкасалась с ножом.

4. Отодвинуть ручку держателя ножа назад до упора, а затем — вперед на себя. Встречая на своем пути приподнятый объект, нож срезает лед с объектом, и срез ложится на его поверхность.

5. Затем ручку держателя ножа снова отодвинуть назад, при этом объект поднимется на толщину среза. Перемещая ручку держателя ножа на себя, сделать второй срез. Каждый новый срез остается на ноже и может накладываться на предыдущий. Вести нож следует быстро, сохраняя плавность движений и равномерность затрачиваемого усилия, что приобретается практикой.

6. После получения 5–10 срезов их нужно осторожно снять с ножа мягкой кисточкой, перенести в каплю воды или глицерина на подписанное предметное стекло. Под стереоскопическим микроскопом внимательно просмотреть срезы и удалить некачественные препаровальной иглой. В воде под покровным стеклом срезы могут храниться не более 1 ч. В глицерине под покровным стеклом срезы могут храниться в течение месяца и более в защищенном от пыли месте.

Таким образом, замораживающий микротом МЗП-01 «Техном» является сложным прибором, работа на котором требует *строгого* соблюдения вышеизложенных правил.

**Представление результатов.** Оценить качество срезов, полученных на замораживающем микротоме через разные биологические объекты при разном температурном режиме замораживания.

## Работа 3

### Методика получения постоянных препаратов

**Цель работы** — изучить основные этапы получения постоянных микротомных препаратов.

**Содержание работы.** Процесс приготовления микротомных препаратов состоит из ряда последовательных операций: фиксации, промывки, обезвоживания, заливки в парафин, получения микротомных срезов, наклейки срезов на предметные стекла, окраски препаратов, заключения срезов в балъзам.

**Фиксация** (от лат. *fixis* — прочный, неизменный, крепкий) — такая обработка материала, которая дает возможность быстро прервать течение жизненных процессов в объекте и сохранить неизменной

тонкую структуру его клеток в таком виде, в каком они были в живом организме к моменту фиксации. Фиксирующие смеси оказывают на объект уплотняющее действие, что необходимо при его резке, а также химическое воздействие — протравливание, которое облегчает в дальнейшем окрашивание препарата.

Неудачно зафиксированный материал дальнейшей обработкой уже не может быть исправлен, поэтому необходимо соблюдать основные правила фиксации:

1. Фиксатор должен быть всегда свежим. Смесь готовится непосредственно перед фиксацией материала. Нельзя повторно пользоваться одной и той же порцией фиксатора. Любая фиксирующая смесь употребляется только один раз.

2. Фиксатор не должен быть слишком теплым. В летнее время его следует защищать от прямых лучей солнца. Хорошим средством является обертывание склянок из темного стекла, содержащих растворы, мокрой тканью.

3. Объем фиксатора должен превышать объем фиксируемого материала в 10–15 раз. Недостаточное количество фиксирующей жидкости препятствует равномерности ее воздействия, а разбавление растительным соком снижает концентрацию действующих начал.

4. Особое внимание следует обратить на состояние фиксируемого материала. Фиксировать следует только совершенно свежий материал, в нем не должно быть признаков подсыхания или увядания. Для сохранения органами растения тургорного состояния накануне фиксации их необходимо обильно полить. Поскольку обычно фиксируются отдельные части растения, то должно быть максимально сокращено время между их отделением от растения и погружением в фиксирующую смесь. Поэтому фиксация, как правило, проводится на месте произрастания растения.

5. В целях быстрого проникновения и полного пропитывания объекта фиксирующей жидкостью он не должен быть слишком объемным. Нельзя фиксировать органы растения целиком, их следует разрезать бритвой на небольшие кусочки размером 0,5–1 см. Все ненужные покровы и ткани снимаются и обрезаются, т. е. объекту придается та форма и величина, которые окажутся наиболее пригодными для дальнейшей обработки материала на микротоме.

6. Необходимым моментом при фиксации является удаление из тканей объекта воздуха, который препятствует равномерному проникновению фиксирующих смесей, особенно водных. Показателем пропитывания объекта фиксатором служит погружение его на дно склянки. Удалить воздух можно путем многократного встряхивания сосуда, где происходит фиксация, или с помощью вакуум-насоса. Достаточно удобным и быстрым способом освобождения фиксируемого материала от воздуха является применение медицинского шприца типа «Рекорд».

7. Необходимо соблюдать рекомендуемое время фиксации.

8. В качестве посуды для фиксации можно использовать низкие пробирки с хорошо подобранными корковыми пробками или пенициллиновые склянки. Посуда должна быть тщательно промыта с использованием хромовой смеси.

9. При фиксации следует соблюдать этикетирование фиксируемого материала. С этой целью в сосуд с фиксирующей жидкостью перед или одновременно с погружением в нее образца опускают этикетку из бумаги с написанным на ней простым карандашом порядковым номером. Подробная расшифровка этого номера дается в журнале фиксации (табл. 3.39).

Таблица 3.39

### Журнал фиксации

Порядковый номер	Дата фиксации	Фиксируемый орган	Изучаемый вид	Фиксатор	Примечание

Все фиксирующие смеси, применяемые в ботанической микро-технике, делятся на две группы — водные и спиртовые.

Наиболее часто из водных фиксаторов употребляется фиксатор Навашина: хромовая кислота 1 %-я (10 частей), формалин 16 %-й (4 части), уксусная кислота ледяная (1 часть).

Для получения 1 %-й хромовой кислоты 780 мг хромового ангидрида ( $\text{CrO}_3$ ) смешивают с 99 мл дистиллированной воды. Формалин 16 %-й можно получить из 40 %-го формалина, имеющегося в продаже, путем соединения 100 мл 40 %-го формалина со 150 мл воды или 40 мл 40 %-го формалина с 60 мл  $\text{H}_2\text{O}$ .

Срок пребывания объекта в фиксаторе Навашина составляет 24 ч. Смесь Навашина удобна для фиксации мелких, нежных объектов, особенно верхушек побегов и корней, и эмбриологических объектов. Она действует мягко и незначительно нарушает прижизненную структуру клеток, сохраняя морфологические особенности тканей, которые в дальнейшем очень хорошо окрашиваются гематоксилином по Гейденгайну. Но использование жидкости Навашина (в связи с медленным проникновением ее в ткани) требует обязательного отсасывания воздуха из объекта и длительной промывки материала после фиксации в проточной водопроводной воде. Однако полученные результаты вполне окупают затраченное время.

При применении хромоформалиновых смесей необходимым условием является их свежесть, в связи с чем фиксатор готовят непосредственно перед употреблением. Если смешение хромовой кислоты с уксусной может производиться заранее, то добавление формалина должно производиться непосредственно перед самой фиксацией. Поэтому готовить смесь следует в количестве, не превышающем требуемого для 1–2 порций материала. Смесь зеленая или фиолетово-зеленая для фиксации непригодна. Раствор хромовой кислоты лучше держать в склянке из темного стекла или обернутой в черную бумагу.

Фиксатор Модилевского: хромовая кислота 1 %-я (9 частей), уксусная кислота 5 %-я (2 части), двуххромовокислый калий 5 %-й (2 части), формалин 16 %-й (2 части).

Продолжительность фиксации 24 ч в темноте. Компоненты фиксирующей смеси соединяют непосредственно перед фиксацией. Фиксатор очень мягкий, хорошо сохраняет строение клеток. По действию на материал схож с фиксатором Навашина.

Из спиртовых фиксаторов наиболее часто используются следующие:



1. Фиксатор Карнуа: спирт 96 %-й (6 частей), хлороформ (3 части), уксусная кислота ледяная (1 часть).

Время пребывания в фиксаторе составляет около 2 ч (при толщине объекта 1–2 мм) или 3–6 ч (при толщине объекта 3–5 мм). Крупные объекты можно оставить в нем на ночь.

Смесь Карнуа удобна для фиксации объемистого эмбриологического материала (бутоны, завязи, соцветия). Она быстро проникает внутрь объекта, поэтому не требует отсасывания воздуха и продолжительной отмывки под струей проточной воды. Но раствор Карнуа является фиксатором более грубым, так как быстрое проникновение внутрь объекта способствует его сжатию и съезживанию. Кроме того, ткани после пропитывания смесью Карнуа плохо окрашиваются гематоксилином.

2. Смесь Яковлева: вода дистиллированная — 60 см<sup>3</sup>, спирт 96 %-й — 30 см<sup>3</sup>, уксусная кислота ледяная — 4 см<sup>3</sup>, формалин 40 %-й — 6 см<sup>3</sup>.

Этот фиксатор удобен для грубых структур, особенно зерновок (но с обязательным предварительным замачиванием их в воде в течение суток). Данная смесь может храниться очень долго, но после фиксации требуется продолжительная отмывка биологического материала в проточной воде.

В состав большинства фиксирующих смесей входят многие токсические вещества, длительное воздействие которых отрицательно сказывается на качестве материала. Кроме того, некоторые из компонентов фиксирующих жидкостей (формалин) при продолжительном воздействии вызывают излишнее уплотнение и хрупкость тканей. Поэтому после истечения срока фиксации материал необходимо очень тщательно отмыть.

**Промывка.** Зафиксированные в водных фиксаторах объекты промываются в проточной воде не менее 12–24 ч. Объекты, зафиксированные в спиртовых фиксаторах, промываются в двух-трех порциях 70 %-го спирта не менее 1–2 ч.

Для отмывки в проточной воде зафиксированный материал вместе с этикеткой, которая должна сопровождать материал до заливки его в парафин, осторожно переносится в специальную стеклянную трубку диаметром 1–2 см, высотой 4–5 см, нижний конец которой

обязан марлей. Затем верхний конец трубки обвязывают марлей. При отсутствии трубок материал промывается в двухслойных марлевых салфетках, завязывающихся ниткой в узелки. Стекланные трубки или марлевые узелки переносят в химический стакан, в который ставится воронка. Стакан помещается под водопроводный кран таким образом, чтобы струя воды попадала в него через воронку, а вытекала через щель между ними или из носика стакана. При таком движении воды обеспечивается непрерывное обмывание материала струями, идущими снизу вверх.

Вся последующая подготовка объектов для приготовления микротомных срезов направлена на создание условий, обеспечивающих непосредственное заключение их в парафин. Осуществляется это двумя последовательными этапами: сначала вода, имеющаяся в объекте, замещается спиртом, который в дальнейшем замещается промежуточной средой (хлороформом или ксилолом), хорошо смешивающейся со спиртом и способной растворять парафин, полностью замещаясь последним.

**Обезвоживание.** Процесс замены воды в объекте называется обезвоживанием. Сложность данного процесса состоит в том, что перемещение материала из водной среды в другую должно происходить постепенно, без резкой смены ее состава и концентрации. В противном случае может быть нарушена структура клеток и тканей фиксированного материала. Для постепенного перевода материала из воды в парафин составляется набор смесей воды со спиртом увеличивающейся концентрации, начиная с 10 %-го до абсолютного (100 %) через интервал в 10°. Процесс обезвоживания материала удобно проводить по схеме (табл. 3.40).

Таблица 3.40

Схема обезвоживания материала

Концентрация спирта, град.	10	20	30	40	50	60	70	80	90	96 I	96 II	100 I	100 II
Срок пребывания материала в спирте, мин	10	20	30	30	30	30	30	60	60	60	60	60	60

В 70 %-м спирте фиксированный материал может храниться длительное время. Прерывать проводку и оставлять материал в других спиртах на более длительный срок, чем указано в схеме, не рекомендуется.

При проведении материала через различные спирты удобнее не перекладывать материал из одной склянки в другую, а менять концентрации спиртов, сливая спирт меньшей крепости и наливая большей, оставляя объект в одном и том же сосуде. Чтобы объекты во время замены спиртов не попали в склянку со сливаемым спиртом, переливание следует производить через воронку, обтянутую капроновой или марлевой салфеткой. В качестве посуды для проводки удобно использовать пенициллиновые пузырьки.

После проведения через спирты большого количества материала они загрязняются и концентрация их постепенно снижается. Поэтому время от времени их фильтруют, а затем заменяют свежими. Чаще необходимо заменять спирты более высокой концентрации (70–100 %).

Для удобства работы заготавливают набор спиртов нужной концентрации заранее, пользуясь табл. 3.41.

*Таблица 3.41*

**Набор спиртов нужной концентрации**

Требуемая концентрация спирта, град.	Необходимое количество	
	90 %-го спирта	воды дистиллированной
10	10	90
20	21	79
30	31	69
40	42	58
50	52	48
60	62	38
70	73	27
80	83	17
90	94	6

Абсолютный спирт, необходимый при проводке, получают обезвоживанием (дегидратацией) 96 %-го спирта. В качестве водоотнимающего средства используют медный купорос. Его обезвоживание производят путем нагревания на медленном огне, во время которого он превращается в белый аморфный порошок. Прокаливание производят под тягой в фарфоровом тигле при постоянном перемешивании стеклянной палочкой. Излишний перегрев приводит к разложению медного купороса, в результате чего он теряет водоотнимающие свойства. О разложении соли можно судить по появлению бурой окраски.

Вводить обезвоженный медный купорос в спирт удобнее всего в бумажных гильзах из фильтровальной бумаги, которые с обоих концов крепко завязаны. На 1 л 96 %-го спирта необходимо в среднем 200 г безводного купороса. Медный купорос, поглощая воду из спирта, постепенно приобретает голубой цвет. Через сутки в спирт погружают новые гильзы. Процедуру повторяют 3–4 раза, до тех пор, пока цвет порошка не будет оставаться белым. Полученный спирт хранят в стеклянной посуде с притертой пробкой, куда опускаются гильзы, заполненные обезвоженным медным купоросом.

С помощью медного купороса можно добиться повышения концентрации спирта лишь до 98 %. Стопроцентный спирт можно получить только путем обезвоживания прокаленной негашеной известью.

Следующий этап проводки материала перед парафинированием состоит в замене спирта веществом, легко смешивающимся с ним и способным растворять парафин, а также легко испаряться при его расплавлении. К таким веществам относятся ксилол, бензол, толуол, хлороформ. Наиболее часто используется хлороформ (перед употреблением его необходимо обезводить прокаленным медным купоросом).

Во избежание появления нежелательных изменений в фиксируемом материале замена спирта промежуточной жидкостью, а затем и парафином производится так же плавно, с постепенным повышением концентрации заменяющего вещества. После абсолютного спирта проводка продолжается по схеме (табл. 3.42).

В случае необходимости в смеси II и III материал можно оставлять на 24 ч и более. После того как смесь пройдет пять порций

материала смесь I выливается, а смесь II занимает ее место. Смесь III готовится заново.

*Таблица 3.42*

**Схема проводки**

Смесь I	75 % абсолютного спирта и 25 % хлороформа	1 ч 30 мин
Смесь II	50 % абсолютного спирта и 50 % хлороформа	»
Смесь III	25 % абсолютного спирта и 75 % хлороформа	»
Чистый хлороформ I		»
Чистый хлороформ II		»

При перенесении объекта в новую смесь спирта с хлороформом он вначале всплывает на поверхность жидкости, а затем должен опуститься на дно стакана. Если объект не тонет, следовательно, он плохо пропитался хлороформом и его нужно оставить в этом растворе на более длительный срок. В чистом хлороформе материал всегда плавает на поверхности.

Показателем хорошего обезвоживания служит отсутствие помутнения при переносе материала в смеси II, III и чистый хлороформ. Нужно помнить, что при хорошем пропитывании хлороформом объекты становятся прозрачными. Появление у объекта непрозрачных участков свидетельствует о неблагополучии при фиксации или в проводке.

**Заливка в парафин.** Последний этап работы заключается в полном замещении хлороформа парафином. Процесс основан на испарении хлороформа, вместо которого в ткани входит расплавленный парафин. Необходимо, чтобы испарение происходило не слишком быстро, иначе парафин не успеет войти в ткани, объекты съежятся и могут вовсе не пропитаться парафином. Это обстоятельство бывает наиболее частой причиной порчи материала.

Парафинирование объекта складывается из ряда последовательных операций.

1. В стеклянные бюксы с хорошо притертыми крышками наливают небольшое количество хлороформа и переносятся объекты с этикеткой. Уровень жидкости должен быть выше материала на 2–4 мм.

2. Слегка наклонив бюкс, осторожно по стенке наливают не-много расплавленного, но не горячего парафина, который должен покрыть тонким слоем всю поверхность жидкости.

3. После этого бюкс выпрямляют и, как только на парафине возникает пленка, так же осторожно доливают парафин в несколько большем количестве, чем растворитель. Парафин, застывая, образует непосредственно над жидкостью с материалом пробку, препятствующую быстрому испарению растворителя.

4. Бюксы плотно закрывают и помещают в термостат при температуре +40 °С на сутки.

5. Через сутки можно переходить к процессу испарения хлороформа. Сначала, слегка приоткрыв крышки, бюксы переносят в термостат с температурой +60 °С. По мере испарения хлороформа материал пропитывается расплавленным парафином, который можно доливать, если в бюксе его окажется недостаточно.

Полное исчезновение растворителя определяется по отсутствию запаха. При задержке испарения парафин следует слить, заменив его чистым. Определение окончания испарения хлороформа необходимо производить с максимальной точностью. Как правило, испарение продолжается от 5 до 8 суток. Длительное пребывание материала в термостате нежелательно, преждевременное удаление — тоже, так как это делает его непригодным для резки на микротоме. Материал в расплавленном парафине должен быть столь же однороден и прозрачен, как и в чистом хлороформе.

6. При полном удалении растворителя из парафина, а следовательно и из объекта, материал вынимают из термостата и производят заливку. Заливка состоит в том, что расплавленный парафин вместе с объектом и этикеткой переливается в форму, где застывает. Получающийся кусок парафина, содержащий в себе объекты и этикетку, называют «пряником». Этикетку приклеивают к верхней поверхности пряника, накладывая ее на только что начавший остывать парафин, когда на нем появится тонкая пленка. Материал в таких пряниках может храниться годами. В качестве формы можно использовать самодельные коробочки из пергаментной бумаги (3 × 2 × 1 см) или металлические колпачки.

Качество пропитывания материала парафином в значительной степени обусловлено качеством парафина. Он должен быть

однородным, аморфным, чистым, не должен содержать летучих примесей и обладать определенной температурой плавления (+50–54 °С). Высокая точка плавления парафина обусловлена твердостью, низкая — мягкостью парафина.

**Способ приготовления парафина.** Парафин, который продается в аптеках, непригоден для непосредственного использования в данной работе, так как он не обладает перечисленными свойствами. Для получения парафина высокого качества его варят в течение 5–7 дней в кипящей дистиллированной воде при открытой крышке с добавлением пчелиного воска из расчета до 30 г на 1 кг парафина. Воду следует менять ежедневно. В конце варки парафин с целью очистки его от механических примесей фильтруется через горячую фильтровальную воронку в эмалированную ванночку, стенки которой смазаны глицерином. После застывания парафин нарезается на палочки размером  $10 \times 1 \times 1$  см.

При работе с парафином нужно соблюдать определенные правила: оберегать расплавленный парафин не только от капельно-жидкой воды, но и от ее паров, поэтому во время работы нужно стараться не дышать на него.

Операция получения *микротомных срезов* начинается с переноса объекта из парафинового пряника на деревянный блок (кубик) с размерами граней 1,5–2 см. Блоки перед использованием рекомендуется прокипятить в парафине. Монтирование объекта на блок для последующей резки на микротоме удобнее всего проводить методом закапывания, введенным С. Г. Навашиным. Укрепление объекта выполняется в следующей последовательности:

1. На пламени спиртовки нагревают одну из торцевых сторон деревянного блока и на нее с подогретого конца парафиновой палочки постепенно наносят каплю за каплей парафин, пока не образуется слой 2–4 мм. Это и есть «подушечка» или «фундамент».

2. Пряник с материалом расплавляют над спиртовкой в фарфоровой чашечке (*не кипятить!*) и препаровальной иглой переносят объект в парафин на деревянный кубик.

3. Теплой иглой поправляют объект, ориентируя его в нужной плоскости, и осторожно начинают заливать парафином с подогретого конца парафиновой палочки. Чтобы капли не скатывались

с возвышения, каждую из них следует наносить после появления пленки. Только тогда они могут удержаться на незастывшем валике парафина, окружающем объект. Капать следует до тех пор, пока объект не будет покрыт достаточным слоем парафина, который будет возвышаться в виде большой полупрозрачной капли.

4. Нагретой иглой провести около объекта, находящегося в капле застывающего парафина. Это поможет смещению наружного парафина с тем, который пропитывает материал, до получения однородной массы. В противном случае при резке объект будет выскакивать из срезов.

5. После затвердения парафина на лицевую сторону блока наклеивают этикетку с порядковым номером фиксации.

6. Теперь заливке нужно придать определенную форму и величину. Для этого удаляют лишний парафин вокруг объекта, пользуясь лезвием безопасной бритвы. Снимать его удобнее, состругивая с верхушки парафиновой капли до тех пор, пока объект не начнет просматриваться через парафин. Затем обрезают парафин с боковых граней, оставляя с каждой стороны объекта слой 2–3 мм, и придают блоку форму прямоугольной призмы с гранями, строго параллельными друг другу. Только в этом случае при резке на микротоме получится правильная лента срезов.

Общим необходимым условием получения срезов на микротоме любого типа (ротационном или салазочном) являются перпендикулярное положение ножа по отношению к объекту и изменение расстояния между ними после каждого среза на заданное число микрон. Для этого деревянный блок вместе с перенесенным на него объектом зажимается специальным устройством в микротомном столике и после установления блока в нужном положении закрепляется неподвижно. Микротомный столик связан с микрометрическим винтом таким образом, что передвижение последнего приводит к смещению столика, а следовательно и блока, на строго определенное расстояние.

Срезы получают таким образом:

1. Вставив нож в держатель, отодвинуть салазки микротоме вместе с ножом назад и установить подачу микротоме на нужное число микрон. С левой стороны разместить настольную лампу



для подогревания ножа и блока и коробку, дно которой покрыто черной бумагой, с правой стороны — кисточку, иголку, марлевую салфетку.

2. Зажать блок в микротомном столике так, чтобы длинная сторона объекта была параллельна ножу; установить его на таком уровне, чтобы верхушка блока почти соприкасалась с ножом, и закрепить неподвижно.

3. Отодвинуть салазки с закрепленным в них ножом назад до упора. Подвинуть салазки с ножом на себя. Встречая на своем пути приподнятый блок, нож срезает парафин с объектом, и срез ложится на его поверхность. Вести нож следует быстро, сохраняя плавность движения и равномерность затрачиваемого усилия, что легко приобретается практикой.

4. Затем салазки вновь отодвинуть назад до упора и снова автоматически поднять блок на толщину среза. Перемещая салазки к себе, сделать второй срез и т. д. Каждый новый срез остается на ноже, отодвигает предыдущий и соединяется с ним в ленту. Для получения хорошей ленты движения ножа должны быть достаточно быстрыми и плавными.

5. Ленту, состоящую из 10–30 срезов, нужно осторожно снять с ножа мягкой кисточкой, перенести в коробку с черным дном и уложить в строгой последовательности матовой стороной вверх, т. е. в том же положении, как срезы ложились на нож. В конце ленты обязательно разместить этикетку с номером, приклеенную к блоку во время закапывания объекта. В таких коробках при закрытых крышках ленты могут храниться до нескольких суток, особенно если будут находиться в холодильнике.

При получении микротомных срезов необходимо соблюдать следующие правила:

1. Нож должен быть остро и правильно отточен (должен разрезать тонкий волос, если его поднести к лезвию и дунуть на него). Перед началом работы желательно производить правку ножа на ремне.

2. Нож закрепляется в таком положении, чтобы фасетка лезвия была параллельна граням парафинового блока и перпендикулярна направлению движения ножа. Угол наклона ножа определяется предварительно на пробных срезах. При слишком крутом наклоне

нож начинает скоблить верхнюю поверхность блока, а при недостаточной величине угла при обратном движении ножа выкрашивается передний край блока.

3. Нож и все части микротомы должны содержаться в большой чистоте. Нож протирается легким движением вдоль фасетки с обеих сторон мягкой тряпочкой, в случае необходимости смоченной ксилолом. Движущиеся части должны быть хорошо смазаны машинным или вазелиновым маслом, защищены от пыли и остатков парафиновых стружек. После каждой резки микротомом тщательно очищается и обязательно закрывается колпаком. Хорошо протертый нож вынимается и хранится в специальном футляре в подвешенном состоянии, не касаясь деревянной стенки лезвием.

Наиболее часто встречающиеся затруднения во время работы на микротоме и способы их устранения представлены в табл. 3.43.

Для качества парафиновых срезов важное значение имеет их толщина. Для анатомических препаратов меристем корня срезы удобнее делать толщиной 7–8 мкм, меристем побегов 9–10 мкм, зародышей семян 6–7 мкм. Для эмбриологических целей толщина срезов может быть 10–15 мкм.

*Таблица 3.43*

**Затруднения, возникающие при работе на микротоме**

Характер неудачи	Причина	Способ устранения
Срезы получаются отдельными или крошатся, нет сплошной ленты	Слишком твердый парафин, в комнате холодно	Повысить температуру около микротомы. Подогреть блок и нож электрической лампой
Срезы мнутся, морщатся и прилипают к ножу	Слишком мягкий парафин, в комнате высокая температура	Понизить температуру, залить объект в более твердый парафин
Лента искривляется	Отсутствует параллельность переднего и заднего краев блока	Выворачивать неправильно обрезанные края парафинового блока. Попробовать резать другой частью ножа

Характер неудачи	Причина	Способ устранения
При обратном ходе ножа срез снимается с его поверхности	Загрязнена нижняя сторона ножа. Нож поставлен слишком круто. Нож тупой	Протереть ксилолом нижнюю сторону ножа. Уменьшить угол наклона ножа. Наточить нож
Срезы ломаются, растрескиваясь в направлении, параллельном фасетке	Нож поставлен слишком круто	Уменьшить угол наклона ножа
Возникают продольные царапины на ленте. Разрыв ленты	Нож имеет зазубрины. В блоке твердые пылинки	Передвинуть нож. Перезакапать объект
Нож скачет через объект, при обратном ходе выкрашивается передняя грань блока	Нож поставлен слишком полого	Увеличить угол наклона ножа
Объект выпадает из срезов или блока	Плохое парафинирование или заливка	Провести парафинирование или заливку снова
Возникают пропуски в получении срезов. Срезы имеют различную толщину	Тупой нож для данной толщины среза	Наточить или заменить нож. Увеличить толщину срезов
Срезы получают гофрированными (волнистыми)	Плохая заливка. Тупой нож	Перезакапать объект. Наточить нож

Полученные микротомные срезы перед окраской должны быть наклеены на предметные стекла. Подготовку предметных стекол начинают с подбора их по толщине. Они тщательно проверяются с помощью микрометра. Для микротомных препаратов применяются лишь стекла толщиной 1,0–1,2 мм. Затем на одном конце стекла матируется с помощью ручного или электрического точила участок шириной 1,0–1,5 см. В результате на поверхности стекла образуется

матовый край, на котором при наклейке срезов делается надпись простым графитовым карандашом. Эти надписи держатся прочно и не смываются ни в одной из жидкостей, через которые проходит далее препарат. Если станок отсутствует, надписи можно сделать прямо на стекле с помощью туши, смешанной в равной пропорции с куриным белком и глицерином.

Предметные стекла должны быть абсолютно чистыми и обезжиренными. Для этого их тщательно моют ершиком с мылом в горячей воде. Затем ополаскивают в холодной воде и помещают в насыщенный водный раствор двуххромовокислого калия с концентрированной серной кислотой (хромпик) в пропорции 3 : 1 или 4 : 1. При смешивании серной кислоты с водой в любых пропорциях происходит большое выделение тепла и сжатие объема жидкости. В связи с этим необходимо с большой осторожностью вливать в воду серную кислоту. В хромовой смеси стекла могут находиться неопределенно долгое время, но не менее суток.

Чтобы проверить чистоту стекол, нужно нанести на них несколько капель воды. Если она будет хорошо растекаться, значит, стекло чистое, а если будет собираться каплями, то на стекле имеются следы жира. На таких стеклах срезы не держатся и отклеиваются очень быстро. Чистые стекла берутся только пинцетом.

Для наклеивания срезов можно использовать и стекла, бывшие в употреблении, даже покрытые бальзамом. Для этого их нужно прокипятить в растворе любой моющей пасты 30–40 мин, ополоснуть под краном с помощью ершика, прокипятить еще раз и обезжирить в хромпике.

На хорошо промытые и абсолютно чистые предметные стекла можно наклеивать парафиновые срезы без белка или других приклеивающих веществ. Если нет уверенности в чистоте стекол, срезы приклеиваются с помощью белка, который готовится следующим образом.

**Приготовление белка.** Куриный белок соединяют с равным по объему количеством глицерина и, хорошо взболтав, фильтруют через складчатый бумажный фильтр. Фильтрация идет очень медленно, в течение нескольких суток, поэтому воронка должна быть сверху обязательно прикрыта. В смесь белка с глицерином и сосуд,

куда она фильтруется, добавляют кристаллик фенола или тимола (или любого антисептика). Отфильтрованный белок готов к употреблению. Его разливают в пенициллиновые пузырьки. В пробку каждого из них вставлена стеклянная палочка, касающаяся нижним концом налитой жидкости.

Наклеивать срезы на предметное стекло удобнее всего в следующей последовательности:

1. Вынуть из хромпика предметные стекла, хорошо промыть в проточной воде и перенести их в стакан с дистиллированной водой.

2. Пинцетом достать предметное стекло, протереть с нижней стороны фильтровальной бумагой, положить на черный трафарет матированной стороной вверх. Слегка коснувшись его поверхности концом стеклянной палочки два раза, нанести белок, а из капельницы — несколько капель дистиллированной воды так, чтобы она равномерно покрыла всю поверхность предметного стекла.

3. На матированном конце стекла простым карандашом аккуратно сделать надпись в виде дроби, числитель которой будет означать порядковый номер стекла, а знаменатель — номер фиксации. Кроме того, записывают толщину среза и координаты срединного среза (позднее).

4. Препаровальными иглами, а еще лучше кисточкой, смоченной водой, перенести на предметное стекло участки парафиновой ленты, осторожно опуская их на воду, на поверхности которой они удерживаются. Срезы располагаются блестящей стороной вниз, сохраняя пространственную ориентацию, возникающую при их получении. На одно предметное стекло можно положить столько срезов, сколько уместится на площади, занимаемой одним или двумя покровными стеклами.

5. На стекле срезы укладывают в строгой последовательности, располагая их рядами. Чаще всего начало препарата находится в верхнем углу, это значит, что туда кладут первый срез, а вниз укладываются следующие за ним. Так создается первый ряд, длина которого должна быть несколько меньше, чем длина покровного стекла. Сосчитав число срезов в ряду, скальпелем разделить парафиновую ленту на такие же участки, чтобы можно было переносить

на стекло сразу целые ряды срезов и укладывать их один за другим перпендикулярно длинной стороне предметного стекла.

6. Срезы, полученные на микротоме, почти всегда бывают несколько сжаты и сморщены. Для получения качественных препаратов необходимо их расправить, уложив срезы, очень осторожно подогреть стекло над спиртовкой, чтобы вода, нагреваясь, увеличилась в объеме и растянула их. Температура воды должна быть несколько ниже точки плавления парафина и лишь размягчать его, но не расплавлять, иначе можно испортить материал.

7. Как только срезы достаточно расправятся и вода остынет, нужно, несколько наклонив стекло, слить с его угла избыточную воду. Осторожно иглой поправить расположение срезов, аккуратно и плотно уложив их друг около друга. Срезы должны быть параллельны друг другу в продольном и поперечном направлении, тогда их легче будет просматривать под микроскопом.

8. Промокнуть срезы фильтровальной бумагой, прижимая ее к стеклу подушечками пальцев, и как можно быстрее перенести стекло на специальном трафарете в термостат с температурой 37–40 °С. Если вода испаряется при комнатной температуре, когда парафин находится в затвердевшем состоянии, то после ее удаления между парафином и стеклом возникают щели и срезы могут отклеиваться во время покраски. При испарении воды в термостате размягченный парафин заполнит образовавшиеся пустоты и срезы прочно приклеятся к стеклу. Сушка длится 5–7 дней.

После высыхания срезы должны иметь совершенно равномерную прозрачность на просвет (не принимаются во внимание различия, зависящие от присутствия объекта). В отраженном свете с задней (стеклянной) стороны срезы не должны иметь светлого зеркального блеска. Блеск указывает на присутствие воздуха между срезами и стеклом. В последующих операциях они будут отклеиваться. Исправить дело можно, погрузив стекло с наклеенными срезами в разведенный спирт (40–50 °) на 2–3 мин и вторично высушив его в термостате при температуре 40 °С. Предметные стекла с наклеенными срезами могут в случае необходимости сохраняться неограниченно долго в защищенном от пыли месте.

Процесс окрашивания микротомных препаратов, независимо от способа их окраски, состоит из трех последовательных операций:

- 1) освобождения срезов от парафина и доведения препаратов до воды через промежуточную среду;
- 2) окрашивания с протравливанием и дифференцировкой в случае необходимости;
- 3) обезвоживания и заключения в канадский балзам.

Вся проводка стекол по средам и сама окраска проводятся в склянках с притертыми пробками (высота 8–10 см, диаметр 4–6 см). В них наливают растворы, необходимые для удаления парафина, обезвоживания и окраски. Уровень жидкости должен соответствовать уровню срезов на препаратах, стоящих в склянке, полностью закрывая их.

При окраске кроме растворов, налитых в цилиндры, необходимо иметь те же жидкости в капельницах — для предварительного смывания стекол перед опусканием в склянку. Склянки ставят в том порядке, в каком будут производиться проводка и окраска стекол, помечая их соответствующими надписями.

Замена на препарате одной среды на другую происходит при переносе их из одной склянки в другую. При этом нужно выполнять следующие условия:

1. Стекла опускать в склянку с жидкостью надписью вверх, стараясь не замочить ее.
2. Препараты ставить таким образом, чтобы срезы находились на стороне, обращенной к стенке склянки. Если препаратов много, то, соединив сторонами без срезов в пары, их также располагают по стенкам склянки. Пары стекол можно поставить и друг около друга, надев сверху стеклянные скобки (хомутики) для предотвращения соприкосновения поверхностей, имеющих срезы. Скобки можно заменить спичками с обломанными головками или канцелярскими скрепками.

При переносе из одной среды в другую со стекла самым тщательным образом нужно удалить остатки прежней среды. Для этого обратную сторону стекла хорошо протереть фильтровальной бумагой. Затем поверхность стекла со срезами смыть несколько раз

из капельницы тем раствором, в который препарат переводится, а свободную от срезов поверхность осторожно промокнуть.

Все время следует следить за тем, чтобы срезы не подсохли, что заметно по их побелению, в противном случае необходимо немедленно смочить их из капельницы.

Стекла переносить только пинцетом с того конца, где имеется надпись.

Окрашивание препаратов с микротомными срезами следует начинать только после того, как они хорошо подсохнут. Освобождение от парафина, как и пропитывание им, происходит постепенно, с использованием промежуточных сред. Растворителем служат хлороформ, ксилол, бензол. Удобнее всего применять первый из них. Промежуточной средой является спирт разных концентраций.

Для предотвращения излишнего загрязнения реактивов во время проводки на препарат предварительно наносится хлороформ из капельницы, который начинает растворять парафин. Для ускорения растворения часто применяют легкий подогрев препаратов над пламенем спиртовки. Через несколько минут хлороформ сливают, препарат смывают несколько раз из капельницы. Опускают стекло в хлороформ I. После чего аккуратно, соблюдая правила, проводку проводят по схеме: хлороформ I (лучше оставить на ночь), хлороформ II (10 мин); спирт 96 %-й I (5–10 мин), спирт 96 %-й II (5–10 мин), дистиллированная вода — две смены по 5 мин.

Способ окрашивания гематоксилином по Гейденгайну является наиболее универсальным. Он широко распространен в ботанической микротехнике, дает хорошие результаты, особенно при изучении меристем побегов и корней. В микротехнике окрашивание принято проводить по схеме: раствор 1, раствор 2 и т. д., так как все растворы готовятся заранее и стоят в склянках, а стекла переносят из одного раствора в другой.

1. Препарат довести до дистиллированной воды описанным выше способом.

2. Железоаммонийные квасцы 4 %-е — 4–6 ч. Растворы железозаммонийных квасцов, используемые для протравы, а в дальнейшем — для дифференцировки, готовятся незадолго перед покраской, поскольку они долго не хранятся.



3. Вода дистиллированная I, II — ополоснуть.

4. Гематоксилин — 8–12 ч (можно на ночь).

5. Вода дистиллированная I, II — ополоснуть.

6. Дифференцировка в 2 %-х железоаммонийных квасцах с контролем под микроскопом. Наблюдения за ходом дифференциации ведутся непрерывно, и ими должно быть охвачено большинство срезов. Срезы быстро отдают краску, и в клетке начинают постепенно проявляться отдельные структуры. Ориентируясь на четкую видимость ядрышек, в момент начала их раскраски дифференцировку прекращают. Для приостановки дифференцировки срезы ополаскивают дистиллированной водой.

7. Вода проточная водопроводная — 1 ч.

8. Вода дистиллированная I, II — ополоснуть.

Все последующие этапы направлены на обезвоживание срезов перед заключением их в бальзам. Процесс непрерывный и общий независимо от типа красителя.

9. Спирт 96 %-й III — 10–15 мин.

10. Спирт 96 %-й IV — 10–15 мин.

11. Бутиловый спирт I — 10–15 мин.

12. Бутиловый спирт II — 10–15 мин.

13. Ксилол I — 10–15 мин.

14. Ксилол II — 10–15 мин (лучше на ночь).

15. Заключение в канадский бальзам.

Интенсивность окраски гематоксилином по Гейденгайну в большой степени зависит от качества фиксации и качества применяемых материалов. Этот краситель лучше применять при фиксации материала в растворе Навашина. Однако даже незначительное увеличение количества формалина в фиксаторе приводит к тому, что при дифференциации в квасцах цитоплазма плохо отдает гематоксилин и слабо раскрашивается. Только строгое соблюдение всех правил последовательных операций при получении микротомных препаратов приводит к хорошим результатам. Срезы получают окрашенными в контрастные оттенки синего цвета. Наиболее интенсивно окрашивается ядрышко (оно почти черное), менее интенсивно — ядро, еще слабее — цитоплазма, а оболочка остается бесцветной. При такой дифференциальной окраске нетрудно получить с препарата

микрофотографии хорошего качества, пользуясь желтым или синим светофильтром.

**Приготовление гематоксилина.** Гематоксилин ( $C_{16}H_{14}O_6$ ) получают в виде кристаллического порошка из экстракта древесины кампешевого дерева. Красящим началом служит не само вещество, а продукт его окисления — гематеин ( $C_{16}H_{12}O_6$ ), получающийся после отдачи двух атомов водорода. Следует употреблять гематоксилин самого лучшего качества. Существует несколько способов изготовления этого красителя.

Раствор гематоксилина по Гейденгайну готовят с обязательным использованием для разбавления дистиллированной воды. К 1 г гематоксилина прибавляют 10 мл 96 %-го спирта и 90 мл воды и оставляют созревать при доступе воздуха на свету в течение 2–4 недель, удаляя пыль ватным тампоном. Перед употреблением разбавляют равным количеством воды, добавляя антисептик. Краситель годен для работы в течение длительного времени.

При ускоренном способе приготовления 1 г гематоксилина растворяют в 100 мл воды, нагревая на водяной бане в течение 30–60 мин. Полученный раствор хорошо фильтруют, после остывания к нему добавляется кристаллик тимола, а перед употреблением — равное количество воды.

Правильно приготовленный раствор должен иметь красный или красно-бурый цвет. Проверка пригодности гематоксилина для окраски производится добавлением в стакан с водопроводной водой нескольких капель раствора. Если вода станет аметистово-лиловой, то гематоксилин пригоден, а если приобретает желтый или буровато-лиловый цвет или появляется черная муть, то раствором пользоваться нельзя, его возвращают на дозревание. При появлении мути или хлопьев раствор гематоксилина рекомендуется профильтровать. Фильтрацию повторяют регулярно после нескольких употреблений.

**Приготовление генцианового фиолетового.** Генциановый фиолетовый, или генциан-виолет, окрашивает очень хорошо в фиолетовый цвет одревесневшие оболочки, ядра и хромосомы. Чаще употребляется водный раствор. Для его приготовления 1 г красителя растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Раствор сразу готов к употреблению. Генциан-виолет часто применяется вместе

с подкраской плазменными красителями: 1 %-м спиртовым раствором эозина или насыщенным растворомaranja в гвоздичном масле. Необходимый при окраске раствор йода в йодистом калии готовится соединением 1 части йода с 1 частью йодистого калия и 100 частями 80 %-го спирта. Окраска идет обычным способом. Препарат, доведенный до воды, помещают в раствор генцианового фиолетового на 5–15 мин. После ополаскивания в дистиллированной воде его переносят в раствор йода в йодистом калии на 30–40 с. Обезвоживание и заключение в бальзам проводят по общепринятой схеме.

**Приготовление сафранина.** Окрашивает в красный цвет одревесневшие оболочки, хромосомы, ядрышки. Употребляется 1 %-й водный или 0,5 %-й раствор в 50-градусном спирте. Особенно прочный краситель получается по методу Картиса: 2 г красителя растворить в 100 мл воды, добавить 0,25 г поташа и 1/3 хлороформа от всего количества. Раствор хорошо взболтать и дать постоять сутки. Окраска сафранином продолжается от 5–10 мин до 1 ч. Хорошо комбинируется с водным синим или светлым зеленым.

**Приготовление основного фуксина по Фельгену.** Окраска по Фельгену считается одной из лучших для ядерного вещества. Процесс приготовления красящего раствора удобнее проводить в следующем порядке:

1. Взяв 1 г чистого основного фуксина (парафуксина), тщательно растереть его в фарфоровой ступке и растворить в 200 мл кипящей воды.

2. Горячий раствор несколько раз взболтать и профильтровать через фильтр в склянку с притертой пробкой.

3. Остудить жидкость до 50 °С, прибавить 20 мл 1 н HCl и, продолжая охлаждать до 25 °С, добавить 1 г бисульфита натрия ( $\text{NaHSO}_3$ ).

4. Получившийся раствор густо-вишневого цвета должен через сутки-двое обесцветиться и приобрести светло-желтый цвет. Если раствор не обесцветился, он не пригоден для окраски. Иногда обесцвечивание получается только после дополнительного прибавления небольшого количества бисульфита натрия, который высыпают в раствор на вторые сутки.

5. Полученный реактив, часто называемый «реактивом Шиффа», в темноте может храниться долгое время, поэтому флакон хорошо

обертывают светонепроницаемой бумагой. Раствор должен быть бесцветным или слабо-желтым.

Перед проведением окраски кроме реактива Шиффа готовят однонормальный раствор  $\text{HCl}$  и «сернистую воду» по следующему рецепту:

а) к 200 мл дистиллированной воды прилить 4 мл концентрированной соляной кислоты (удельный вес 1,19);

б) в 25 мл дистиллированной воды растворить 4 г безводного или 8 г кристаллического бисульфита натрия;

в) соединить оба раствора и хранить в темноте. Сернистую воду готовят незадолго до окраски. Ее используют до тех пор, пока она имеет сильный запах сернистого газа. По возможности каждый раз перед употреблением готовить свежий раствор.

Раствор соляной кислоты (1 н) готовится либо путем титрования с нормальным раствором щелочи, либо (что проще, но не столь точно) путем добавления 82,8 мл крепкой соляной кислоты удельного веса 1,19 к 1 л воды.

Следует помнить, что реакция Фельгена действительна только при гидролизованном материале и применять ее без гидролиза нельзя.

Окраску реактивом Фельгена — Шиффа следует проводить по следующей схеме:

1. Препараты обычным способом довести до воды и опустить на 2–3 мин в холодную 1 н  $\text{HCl}$ .

2. Провести гидролиз в 1 н  $\text{HCl}$  при температуре 50–60 °С в течение 6 мин. Для этого в химическом стакане заранее подогревают на водяной бане соляную кислоту с таким расчетом, чтобы в момент погружения препаратов ее температура была 61–63 °С, она должна сразу снизиться до 58–60 °С. Гидролиз должен проходить в оптимальных условиях. Между препаратами обязательно ставится термометр, по которому все время следят за температурой, поддерживая ее на нужном уровне, снимая стакан с бани и вновь ставя на нее.

3. По истечении срока гидролиза препараты быстро опускают в холодную 1 н  $\text{HCl}$ , после чего хорошо ополаскивают дистиллированной водой. В холодной соляной кислоте гидролиз сразу прекращается.

4. Поместить в реактив Шиффа на 3 ч.
5. Тщательно промыть в трех сменах сернистой воды по 5 мин в каждой.
6. Промыть водопроводной водой в течение 5–10 мин.
7. Промыть в двух сменах дистиллированной воды по 3–5 мин в каждой.
8. Обезвоживание, проводку через ксилол, заключение в бальзам проводить обычным способом.

Реактив Шиффа окрашивает в клетках обычно только ядра и хромосомы, поэтому очень хорошие результаты дает покраска цитоплазмы светло-зеленым (лихтгрюн) или эозином. Подкрашивание производят 1 %-м спиртовым раствором лихтгрюна после 96 %-го IV спирта (перед погружением препаратов в бутиловый спирт) в течение 1–2 мин.

Для превращения срезов в постоянные препараты их заключают в *канадский бальзам*, получаемый из кедровой или пихтовой смолы, которую растворяют в ксилоле до густоты меда. Готовый бальзам наливают в пенициллиновый пузырек, закрытый корковой пробкой, через которую пропущена стеклянная палочка.

Заключение срезов в бальзам производится следующим образом:

1. Вынув из ксилола препарат, сторону стекла, имеющую срезы, ополоснуть ксилолом, а противоположную протереть фильтровальной бумагой. Быстро определить, с какой стороны находятся срезы, поможет надпись, расположенная на одной поверхности с ними.

2. Положив препарат на чистую фильтровальную бумагу, нанести на срезы 1–2 капли канадского бальзама.

3. Взяв пинцетом чистое покровное стекло, поставить его наклонно вдоль срезов, поддерживая верхний край препаровальной иглой. Скользя по игле, стекло постепенно опускается на объекты, и канадский бальзам занимает все пространство между ним и покровным стеклом. Покровное стекло нужно размещать обязательно выпуклой стороной вверх.

4. Слегка нажимая пинцетом или концом деревянной ручки препаровальной иглы, удалить лишний бальзам и пузырьки воздуха, если они появятся.

5. Препараты сушатся в горизонтальном положении на фанерных или картонных трафаретах. Обычно их сушат в термостате при температуре 37–40 °С. Сохнут они медленно, и только через 2–4 дня их можно просматривать.

6. Просохшие препараты очистить от выступившего из-под стекол лишнего бальзама с помощью ксилола. После проверки надписи их можно считать пригодными к просмотру.

**Подготовка покровных стекол.** Покровные стекла нужной толщины, не превышающей 0,16–0,18 мм, отбираются с помощью микрометра. Более толстые стекла препятствуют наведению на фокус, что особенно сказывается при фотографировании препаратов. Среди отобранных стекол выбраковывают стекла, имеющие царапины, пузырьки и особенно кривизну поверхности, так как они вызывают вхождение пузырьков воздуха под покровное стекло и даже отставание его края или краев. Разложив стекла в один слой в чашке Петри, их моют в проточной воде при помощи мыла и ершика. Затем переносят в 70 %-й спирт. Стекла насухо протирают марлей или мягкой тряпочкой и хранят в чистых боксах с крышками. Брать чистые покровные стекла следует только пинцетом.

Смонтированный препарат заносится под очередным номером в каталог, в котором отмечаются способ окраски, номер по журналу фиксации, стоящий на препарате. Полученные препараты могут храниться неограниченно долго.

При работе с ксилолом, парафином, хлороформом и бутиловым спиртом следует соблюдать технику безопасности и работать при включенной тяге.

**Представление результатов.** Представить постоянный препарат серии продольных срезов кончика корня лука, отметить маркером на покровном стекле лучший срез.

## Работа 4

### Методика получения временных препаратов

**Цель работы** — изучить основные методы получения временных препаратов.

**Содержание работы.** Для первоначального знакомства с фиксированным материалом или для наблюдения над живым объектом можно ограничиться препаратами временными, не рассчитанными на продолжительное хранение.

Среди способов приготовления временных препаратов наиболее распространен *ацетокарминовый метод*, согласно которому объекты подвергаются воздействию насыщенного раствора кармина в 45 %-й уксусной кислоте. Особенность влияния такой смеси состоит в том, что она одновременно производит фиксацию и окраску. Фиксация осуществляется уксусной кислотой, а окраска — кармином, который окрашивает ядра и хромосомы в темно-красный цвет, а цитоплазму — в светло-розовый.

#### **Приготовление ацетокармина.**

1. В колбу с 55 мм дистиллированной воды добавляют 45 мл ледяной уксусной кислоты и 5 г кармина в виде ярко-красного порошка.

2. Закрыв колбу ватной пробкой, смесь кипятят на водяной бане в течение 1 ч, не допуская выбрасывания кипящей жидкости из колбы.

3. Смеси дают остыть и фильтруют в склянку с притертой пробкой. Получившийся раствор должен быть густого темно-красного цвета. Он сохраняет свою пригодность в течение длительного времени при хранении в прохладном темном месте. Для работы смесь отливают в небольшую капельницу.

Известны различные способы приготовления ацетокарминовых препаратов, при которых объекты или сразу подвергаются воздействию смеси, или предварительно фиксируются.

Ацетокарминовый метод, позволяет определить процент стерильности пыльцы у растений в условиях техногенного загрязнения среды. Для данного анализа принято готовить давленные препараты.

Методы приготовления таких препаратов получили название экспресс-методов. Наиболее удобный материал для этих целей — бутоны цветов, в них пыльники, как правило, не вскрывшиеся и пыльца не выпала. Микроскопический анализ пыльцевых зерен удобнее проводить на видах, имеющих крупные пыльники (чина, кострец). Следует внимательно рассмотреть строение цветка. Препарировать цветок нужно на предметном стекле под микроскопом МБС-10 или МСП-1. С помощью препаровальной иглы необходимо снять околоцветник и гинецей и удалить их с предметного стекла. Тычинки рассмотреть при малом и большом увеличении и удалить тычиночные нити. Пыльники нужно сгруппировать так, чтобы они все поместились под одним покровным стеклом.

**Окраска без предварительной фиксации.** Таким способом пользуются при изучении процессов микро- и спорогенеза. В этом случае пыльники погружают в каплю ацетокармина на предметное стекло и выдавливают их содержимое. Выдавлившиеся спорогенная ткань или пыльцевые зерна, попав непосредственно в раствор, быстро фиксируются и начинают окрашиваться. Раздавить пыльники можно стеклянной палочкой или тыльным концом препаровальной иглы. Давление, производимое на пыльники, должно быть таким, чтобы выдавливалось их содержимое, но клетки не повреждались. После того как пыльники раздавлены, нужно удалить наиболее крупные части из стенок пыльника, каплю реактива с объектами осторожно закрыть покровным стеклом.

Очень часто применяется другой способ приготовления препарата, при котором сначала раствор с объектами закрывают покровным стеклом, а затем надавливают на него до тех пор, пока не раздавятся пыльники. Окрашивание объектов усиливается при повышении температуры, поэтому препараты рекомендуется несколько раз подогревать, но не доводить до кипения. При излишнем перегреве интенсивность окраски уменьшается.

**Окраска после предварительной фиксации.** Далеко не всегда можно сразу приготовить временные препараты. Часто приходится сначала зафиксировать материал и только через значительный промежуток времени приступить к приготовлению временных ацетокарминовых препаратов. В качестве фиксатора чаще всего



употребляются растворы Карнуа или Чемберлена. Материал после истечения срока пребывания в фиксаторе отмывается 70 %-м спиртом и хранится в нем.

Пыльники погружают в каплю ацетокармина на предметное стекло, где из них выдавливают содержимое по одному из описанных выше способов и готовят препарат так же, как и из нефиксированного материала. Следует только обязательно подогреть его 3–5 раз на пламени спиртовки, и препарат готов для микроскопического изучения.

Ацетокармин хорошо окрашивает зрелую пыльцу. При этом спермии и ядро вегетативной клетки окрашиваются в темно-красный цвет, цитоплазма — несколько слабее. Нормально развитые пыльцевые зерна имеют правильную шаровидную или эллипсоидную форму. Стерильные пыльцевые зерна меньше размером, имеют неправильную округло-угловатую форму, пустые. Подготовленные препараты просматривают при увеличении в 100 раз. На каждом препарате анализируют по 10 полей зрения, в каждом из них определяют число стерильных и фертильных пыльцевых зерен.

**Представление результатов.** Результаты оформляют в виде таблицы с указанием числа стерильных и фертильных пыльцевых зерен каждого поля зрения (табл. 3.44). На основании просмотра не менее 10 полей зрения вычисляют средние показатели.

*Таблица 3.44*

**Определение процента стерильных зерен клевера лугового**

№ препарата	№ поля зрения	Число пыльцевых зерен	
		стерильных	фертильных

Окрашивание ацетокармином фиксированного материала применяется также для подсчета числа хромосом, митотической активности клеток, нарушений, происходящих во время деления

соматических клеток, и определения жизнеспособности пыльцы. У фертильных пыльцевых зерен цитоплазма и спермии окрашиваются в карминово-красный цвет. Стерильные пыльцевые зерна не окрашиваются или окрашиваются неравномерно, содержимое отходит от оболочки, спермиев нет. Подсчитывают процент фертильных пыльцевых зерен от общего числа пыльцевых зерен в 10–12 полях зрения микроскопа.

Часто временные давленные препараты бывают настолько хорошими, что их можно оставлять на более длительный срок. Имеется несколько способов сохранения временных препаратов и перевода их в постоянные. Самым простым из них является нанесение расплавленного парафина на края покровного стекла, который, заполняя просвет между ним и предметным стеклом, значительно снижает испарение жидкости, окружающей объект. Такие препараты сохраняются в течение нескольких недель, а иногда и месяцев.

Значительно удлиняется срок хранения временных препаратов при погружении объектов в глицерин, который замещает среду, окружавшую их раньше. Замена среды осуществляется таким образом: у одного из краев покровного стекла фильтровальной бумагой оттягивают жидкость, имевшуюся в препарате, одновременно на противоположный конец наносится новая среда, которая легко проникает под стекло и способствует вытеснению прежней. Испарение глицерина настолько невелико, что объекты в нем могут сохраняться годами, особенно при окантовке стекла парафином.

Перевести временные препараты в полупостоянные можно и другим способом. Стараясь не сдвинуть с места объект, осторожно снимают покровное стекло, препарат обезвоживают 96 %-м спиртом, затем бутиловым спиртом, проводят через ксилол и заключают в канадский бальзам.

Изучение временных препаратов лежит в основе метода *биологического контроля*, который широко используется в практике экологического мониторинга. Биологический контроль заключается в проведении систематических наблюдений за процессами заложения и формирования вегетативных и репродуктивных органов побега травянистых и древесных растений. Помимо фенологических наблюдений этот метод предусматривает прижизненное

препарирование почек побегов разных типов. Именно состояние конуса нарастания побега указывает на жизнеспособность отдельных органов и всего растения в целом. Нежные меристематические клетки, слагающие конус нарастания, наиболее чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов среды. Признаками их повреждения является полная потеря тургора и появление бурой, а затем темной окраски. Это приводит к отмиранию побега и часто всего растения.

Морфологический анализ зимующих почек древесно-кустарниковых растений удобнее начинать с видов, имеющих крупные почки (рябина, бузина, сирень). Следует внимательно рассмотреть строение верхушечной и пазушной почки на побеге, измерить ее и зарисовать внешний вид. Препарировать почку можно прямо на побеге или отделить ее с кусочком стебля и перенести на препаровальное стекло, закрепив лейкопластырем. С помощью препаровальной иглы необходимо снять все почечные чешуи и расположить их в ряд на препаровальном стекле. Обратить внимание на то, что супротивные чешуи сходны по размерам и форме, поэтому их нужно группировать в пары.

Листовые зачатки удобнее снимать под микроскопом МБС-1. Необходимо учитывать их количество. Конус нарастания рассмотреть при малом и большом увеличении. Обратить внимание на его состояние: поврежденный он или живой. Если живой, определить, является ли он вегетативным или перешел к формированию генеративных органов. Изучая формирующиеся структуры цветка и соцветия, определить этап органогенеза и связать с положением почки на побеге.

***Представление результатов.*** Временные препараты отпрепарированных почек древесно-кустарниковых форм, морфологический анализ почек в виде таблицы (внешний вид, размер, емкость почек, состояние конуса нарастания и число листовых зачатков на нем).

## Работа 5

### Цитогенетический метод

**Цель работы** — изучить кариотип некоторых видов травянистых растений и освоить методику проведения кариологического анализа.

**Содержание работы.** Цитогенетический метод, который часто называют кариологическим, широко используется для наблюдений и позволяет выявить хромосомные нарушения в условиях техногенного загрязнения среды. Для кариологического анализа принято готовить давленные препараты (экспресс-методы). Наиболее удобный материал для этих целей — меристема кончика корня. Меристематические клетки корня крупнее, чем побега, и хромосомы в метафазной пластинке располагаются более свободно, что облегчает их изучение и подсчет. Корни можно получить в любое время года из проросших семян, луковиц, клубней и т. д.

Основные этапы работы при изготовлении давленных препаратов следующие:

1. Отбор и подготовка материала для исследования: от подготовки материала во многом зависит достоверность опыта. Рост корней и деление клеток в его кончике тесно связаны с температурой воздуха и влажностью почвы. Необходимо учитывать и суточную ритмику митотической активности меристематических клеток, т. е. приуроченность максимума митозов к определенному времени суток. Семена проращивают в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге. В зависимости от вариантов опыта добавляют растворы солей тяжелых металлов или других мутагенов. Проращивать луковицы удобнее в сосуде с водой или искусственной питательной смесью. Длина корня не должна превышать 0,5–1,5 см.

2. Предфиксационная обработка (предобработка) — предварительная обработка живых объектов веществами, действующими на митоз. Ее цель — задержка митоза в метафазе, лучший разброс хромосом в объеме клетки и их укорачивание. В результате облегчаются подсчет хромосом и изучение их морфологии.

При химической обработке наиболее часто используют колхицин, который блокирует деление клетки в метафазе. Готовят водный раствор колхицина слабой концентрации (0,01–0,05 %). Материал выдерживается в нем 4–5 ч. Затем кончики корней промывают в трех сменах дистиллированной воды по 5–10 мин и переносят в фиксатор.

3. Для фиксации используют спиртовые фиксаторы и чаще всего раствор Карнуа. Время пребывания в нем — от 2 до 12 ч. Затем материал промывают в 96-градусном спирте три раза по 30 мин, каждый раз меняя спирт, и хранят в 70-градусном спирте в холодильнике.

4. Обязательным этапом приготовления давленных препаратов, содержащих монослой клеток, является мацерация. Добиться хорошего монослоя можно путем растворения межклеточного пектинового вещества. Чаще всего в качестве мацерата используют горячую 45 %-ю уксусную кислоту. Для этого фиксированные кончики корней помещают в бюкс, который содержит небольшое количество кислоты. Закрывают крышкой и несколько секунд прогревают над пламенем спиртовки, периодически отодвигая от нее и охлаждая. При окрашивании реактивом Шиффа объект мацерируют в 50 %-й соляной кислоте (HCl).

5. Окрашивание. В качестве красителей, выявляющих хроматин, наиболее часто используют ацетокармин и реактив Шиффа (основной фуксин по Фельгену). Рецепты приготовления этих красителей и способы окрашивания ими описаны ранее.

6. Раздавливание (получение монослоя клеток) позволяет добиться распределения всех клеток в один слой и сделать их более плоскими. Его проводят в 45 %-й уксусной кислоте. Окрашенный корень переносят на предметное стекло и под бинокляром удаляют корневой чехлик. Отрезают лезвием зону деления, выделяющуюся интенсивной окраской. Разрезают ее на несколько частей (1–2 мм), переносят на чистое предметное стекло в каплю уксусной кислоты, равномерно распределяют, покрывают покровным стеклом и начинают раздавливание. Вначале осторожно надавливают заостренной спичкой на покровное стекло, слегка раздавливая кусочки корня. Затем постукиванием добиваются расхождения клеток и равномерного распределения их в один слой. При этом на месте кусочка образуется окрашенное пятно. Далее покровное стекло накрывают

полоской фильтровальной бумаги и производят сильное надавливание рукояткой иглы от центра к периферии препарата, а затем — подушечками пальцев в течение 1 мин. Эта процедура способствует распластыванию клеток и разбросу хромосом. Излишки уксусной кислоты, выступившие за границы покровного стекла, промокают фильтровальной бумагой. Чтобы предотвратить высыхание полученного препарата, его окантовывают по периметру покровного стекла клеем БФ или расплавленным парафином. Можно перевести временный препарат в постоянный по описанной ранее методике.

7. При исследовании приготовленных препаратов необходимо выбрать метафазные пластинки, где хромосомы лежат более-менее отдельно, не накладываясь друг на друга, и отметить их тушью прямо на стекле. Эту операцию обычно проводят при малом увеличении микроскопа. В дальнейшем препарат изучается с использованием иммерсии и 90-кратного объектива.

С помощью рисовального аппарата делают тщательные рисунки — не менее десяти метафазных пластинок, передавая точную форму и размер хромосом. У каждой хромосомы отмечают нахождение первичной перетяжки, центромеры вторичной перетяжки и спутника. Затем необходимо составить кариограмму. Для этого хромосомы каждого кариотипа нумеруют, располагают в один ряд, строго соблюдая их размеры. Первыми располагают самые крупные, а затем более мелкие. Гомологичные хромосомы располагают рядом, как указано на рисунке. Последняя цифра указывает на общее число хромосом. При описании кариотипа необходимо указать диплоидный набор хромосом, сделать полный морфологический анализ хромосом, определить тип хромосом по положению центромеры. Обратить внимание на присутствие или отсутствие отклонений в кариотипе.

***Представление результатов.*** Давленные препараты кончика корня лука, один из которых окрашен ацетокармином, а другой — реактивом Шиффа. Рисунок набора хромосом, выполненный с помощью рисовального аппарата, с обозначением всех морфологических структур (первичная перетяжка, центромера, вторичная перетяжка, спутник). Кариограмма с нумерацией всех хромосом с соблюдением их размеров. Подробное описание кариотипа данного вида с включением выявленных отклонений в нем.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Какие типы и марки микроскопов используются в биологических и экологических исследованиях?
2. Назовите основные характеристики объектива и окуляра микроскопа.
3. Что такое разрешающая способность микроскопа?
4. Каковы основные принципы работы с рисовальным аппаратом?
5. Какие способы выравнивания яркости освещения бумаги и изображения объекта при его зарисовке с помощью рисовального аппарата вы знаете?
6. Каковы единицы измерения истинных размеров объекта при работе с винтовым окулярным микрометром?
7. В чем отличия временных и постоянных препаратов?
8. Назовите основные отличия способов окраски ядерного материала ацетокармином и реактивом Шиффа.
9. По каким признакам можно определить степень повреждения и степень сформированности зимующих почек древесно-кустарниковых форм?

## 3.9. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКОРИЗЫ У ОСОБЕЙ РАСТЕНИЙ И ЕЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ В НАЗЕМНЫХ СООБЩЕСТВАХ

Микориза — симбиоз мицелия грибов с корнями высших растений. В результате корни претерпевают морфологические и анатомические изменения и приобретают специфические черты. Микориза — важнейший из растительно-микробных симбиозов. Более 80 % наземных растений образуют микоризы различных типов.

Микосимбиотические связи широко распространены в наземных сообществах. Микоризные грибы увеличивают адсорбционную поверхность корней, участвуют в поглощении растениями питательных

веществ из почвы (особенно азота и фосфора), улучшают снабжение растений водой, влияют на морфогенез корневой системы и растений в целом, влияют на интенсивность фотосинтеза, способствуют повышению устойчивости к патогенными микроорганизмам, участвуют в регуляции роста и развитии растения. Встречаются немикоризные особи и виды растений, но практически не существует безмикоризных наземных сообществ.

Типы микориз разнообразны, разработке классификации посвящено много работ. В большинстве сводок последних лет выделяют семь основных типов микориз [Микология сегодня, с. 124, 164; Смит, Рид, с. 12].

- *Арбускулярная* (АМ) — самый широко распространенный тип микориз. Его образуют более 300 тыс. видов растений, преимущественно травянистых, и около 150 видов грибов, малоспецифичных к хозяину, облигатных симбионтов, относимых к порядку Glomerales отдела Glomeromycota. Микобионт образует несептированный многоядерный мицелий, который присутствует в межклетниках растения-хозяина и образует внутриклеточные структуры — арбускулы и везикулы, по которым этот тип микориз ранее называли *везикулярно-арбускулярным*. Арбускулы — гифальные древоподобные структуры, представляющие контактную зону симбионтов, через которую осуществляется обмен веществ. Везикулы — запасающие структуры, тонкостенные, вздутые, часто заполненные липидами. *Арбускулярные микоризы* распространены повсеместно, преобладают в травяных сообществах; в умеренных широтах встречаются у растений под пологом леса. Помимо трав АМ характерны также для многих древесных растений.

- *Эктомикориза* (ЭМ). Ее образуют 5–6 тыс. видов почти исключительно древесных и кустарниковых растений. Микобионты ЭМ — преимущественно базидиомицеты и реже аскомицеты. Для ЭМ характерно значительное морфологическое изменение корневой системы растений из-за активного ветвления латеральных корней и формирования на них мицелиальных чехлов. Зона контакта симбионтов в ЭМ — сеть Гартига. Это мицелиальная структура, формирующаяся в межклетниках эпидермы и/или мезодермы (паренхимы коры). Структурные признаки: корни деревьев сильно



метаморфизированы, т. е. превращены в булавовидные, вильчатые, коралловидные или другой формы микоризные окончания; хорошо выражен наружный грибной чехол, имеющий разнообразные цвет и строение, и сеть Гартига. В несформировавшихся микоризах и в разных вариантах сформировавшихся ЭМ может не быть либо наружного чехла, либо сети Гартига.

- *Эктоэндомикориза* (ЭЭМ) выделяется не всеми исследователями, поскольку иногда ее считают возрастной стадией (молодой или, наоборот, стареющей) ЭМ или видоизменением ЭМ при определенных условиях [Селиванов, 1973, с. 29; Brundrett; и др.]. Чаще всего этот тип идентифицируют у видов родов *Larix* и *Pinus* в лесных питомниках или нарушенных местообитаниях. Микобионты ЭЭМ относятся к аскомицетам. В микоризах этого типа одновременно присутствуют структуры ЭМ (чехол, иногда более тонкий, чем у ЭМ; сеть Гартига) и внутриклеточные гифы микобионта в клетках коры фитобионта.

- *Эрикоидная* (ЭрМ) — этот тип микориз распространен у растений сем. *Ericaceae* (Вересковые) пор. *Ericales*; ЭрМ образуют аскомицеты, способные к утилизации азота и фосфора. Морфологически ЭрМ представлена клубками недифференцированных гиф в клетках коры корня фитобионта и формируется только в очень тонких корнях. Микоризные корни покрыты рыхлой сетью гиф, настоящий чехол не образуется.

- *Арбутоидная* (АрМ) — переходный тип между ЭрМ и ЭМ, морфологически близкий к ЭМ. Имеются чехол и сеть Гартига, но клетки коры, как правило, пронизаны гифами, образующими клубки. Микобионты — базидиомицеты, типичные для ЭМ хвойных растений, реже — аскомицеты. Среди растений АрМ образуют представители подсемейства *Arbutoideae* и *Pygoloideae* из *Ericaceae*.

- *Монотропоидная* (ММ). Симбиоз включает зеленое древесное растение, ЭМ-гриб и бесхлорофильное растение из подсемейства *Monotropeae*. В таком симбиозе бесхлорофильные растения благодаря взаимодействию с микоризными грибами получают не только минеральные вещества, но и углеводы — продукты фотосинтеза, поступающие от симбиотически связанных с ЭМ фотосинтезирующих растений (*Picea*, *Pinus*, *Abies*, реже *Fagus*, *Pinus sibirica*

и *Quercus*). Структурно ММ образована грибным чехлом, мицелиальной сетью в эпидерме и проникающими в клетки шиповидными «гаусториями», по которым ток веществ осуществляется в сторону микогетеротрофного (т. е. неавтотрофного) растения.

• *Орхидная* (ОМ) микориза характерна для растений семейства Orchidaceae, все виды которого микогетеротрофны на ранних стадиях развития, а 200 — остаются бесхлорофилльными во взрослом состоянии. Микобионты ОМ — преимущественно базидиомицеты, являющиеся сапротрофами, ЭМ-грибами или паразитами растений, иногда аскомицеты. Структуры ОМ: пелотоны (гифальные клубки). Они расположены внутри клеток коры корня орхидей, распространение микобионта локализовано и контролируется растением.

Микориза распространена во всех биомах земного шара, но преобладающие ее типы в разных биомах разные. В арктических тундрах распространены преимущественно эрикоидные, в лесах умеренных широт, а также в некоторых типах тропических лесов — ЭМ, в луговых сообществах умеренных широт, в саваннах, пустынях и тропических лесах — АМ микориза. Описанное распределение относится в первую очередь к доминантным в тех или иных биомах видам растений, а в целом же в растительных сообществах практически всех природных зон обычно представлен полный спектр типов и форм микориз [Селиванов, 1981, с. 81]. В бореальной зоне ведущее значение имеет эктомикориза, так как ее образуют древесные растения — доминанты и эдификаторы растительных сообществ, системообразующий компонент бореальных экосистем. Эктомикоризные грибы образуют в лесных почвах обильный мицелий и участвуют в широком спектре взаимоотношений с почвенными организмами разных таксономических и трофических групп.

Микориза может быть исследована с помощью анализа качественных и количественных признаков на следующих структурных уровнях:

- особь растения;
- растительная популяция;
- вид растения;
- растительное сообщество;
- флора.

## Работа 1

### Изучение арбускулярной микоризы

**Цель работы** — выявить основные качественные и количественные показатели арбускулярной микоризы, оценить развитие АМ у травянистых видов растений.

**Материал и оборудование.** Свежие или фиксированные образцы корней древесных и травянистых растений

**Содержание и ход работы.** Изучение арбускулярной микоризы проводится по методике И. А. Селиванова [Селиванов, 1981, с. 16]. Работа включает полевой сбор образцов и камеральную обработку. В зависимости от задачи отбираются образцы корней одного, нескольких или всех видов травянистых растений, произрастающих в фитоценозе или на пробной площади. Необходимо отбирать образцы не менее чем у пяти экземпляров каждого вида. При решении задач, предусматривающих учет внутривидового полиморфизма растений, объемы выборок должны быть увеличены до 30–50 особей. При этом образцы следует собирать дифференцированно — от особей каждого онтогенетического состояния, разного жизненного состояния и т. п. У растений при сборе должны быть сохранены самые тонкие корни толщиной не более 1 мм, так как АМ встречается преимущественно в них. В настоящее время считается стандартной влажная фиксация (в 70 % спирте), так как сохранность АМ структур в высушенных корнях под вопросом.

Камеральная обработка сборов проводится способом мацерации. Для анализа отбирают по 5–10 корней с апикальной меристемой каждого растения толщиной не более 500–600 мкм, поскольку корни с большим диаметром АМ, как правило, не содержат. Отобранные корни мацерируют в 15 % растворе КОН на водяной бане при температуре 95° С. Время мацерации подбирается опытным путем для каждого вида растения. Минимальное время — 30 мин. Для проверки качества мацерации из щелочи извлекают 1 корень, располагают на предметном стекле, накрывают покровным стеклом и проводят тыльной стороной иглы по поверхности покровного стекла. Если ткани корня хорошо раздавливаются, мацерацию прекращают, если

плохо — увеличивают время мацерации на 10 мин. После мацерации корни отмывают от щелочи водой и окрашивают анилин-блау в молочной кислоте (смесь (1 : 1) молочной кислоты (40 %) и анилиновой сини (1 %)). У каждого растения исследуют по 20 см поглощающих корней. Корни разрезают на 20 фрагментов по 1 см каждый, раскладывают на предметное стекло в водный раствор глицерина (1 : 1) и накрывают покровным стеклом. Подготовленные препараты просматривают в поле зрения микроскопа при увеличении в 100 раз. На каждом фрагменте в 1 см регистрацию выполняют в пяти полях зрения. При регистрации АМ в полях зрения можно ограничиться оценками встречаемости АМ, давая каждому полю зрения оценку «АМ есть» и «АМ нет». При необходимости более детального учета обилие АМ в каждом поле зрения дополнительно определяют, пользуясь пятибалльной шкалой (табл. 3.45). На основании просмотра не менее 100 полей зрения вычисляют средние значения.

Таблица 3.45

**Критерии степени обилия АМ [Селиванова, 1981]**

Обилие АМ	Балл
Вся мезодерма занята грибом в форме гиф, везикул, арбускул или зернистой массы	5
3/4 клеток мезодермы заняты грибом, а в остальных его нет	4
Половина клеток занята грибом	3
1/4 клеток мезодермы заполнена грибом	2
Микоризный гриб встречается лишь в отдельных клетках мезодермы	1

При изучении микоризы определяют следующие показатели.

*Частота встречаемости микоризы (F)* характеризует соотношение между огрибненными и неогрибненными участками корневой системы изучаемого растения и вычисляется в процентах по формуле

$$F = \frac{n \cdot 100 \%}{N},$$

где  $n$  — число полей зрения, где обнаружен микоризообразующий гриб;  $N$  — общее число просмотренных полей зрения.

По приведенной формуле встречаемость АМ рассчитывается как встречаемость в полях зрения. Возможен выбор и другой счетной единицы — 1-сантиметрового фрагмента корня; тогда подсчитывается доля таких фрагментов, содержащих АМ, из общего числа проанализированных 1-сантиметровых фрагментов корней.

Ранее данные методы считали допустимыми, поскольку усреднение балловых оценок возможно только путем вычисления медианы, а не среднего арифметического; методы оценки обилия АМ, основанные на балловых оценках, лучше применять во избежание методических недопущений.

В зависимости от обилия АМ И. А. Селиванов и В. Ф. Шавкунова [Селиванов, Шавкунова] подразделяют АМ растения на три группы:

- 1) высокомикотрофные, средний балл обилия 3,6–5,0;
- 2) среднемикотрофные — 1,8–3,5;
- 3) слабомикотрофные — 0,1–1,7.

С учетом того что процедура усреднения балловых оценок считается в настоящее время некорректной, следует ориентироваться на медианы распределений поставленных баллов обилия:

- растения с обильной АМ — 3,5–5 баллов;
- растения со средним развитием АМ — 2–3,5 балла;
- растения с малообильной АМ — менее 2 баллов.

При изучении микоризы у отдельных особей отбор образцов в поле может проводиться с учетом возрастного состояния особей, в короткие сроки; субстрат должен быть однородным, число особей таким, чтобы можно было выполнить статистически надежные сравнения. При камеральной обработке корни каждой особи анализируются отдельно и для каждой отдельно вычисляются показатели развития АМ. При просмотривании препаратов необходимо отмечать долю полей зрения, содержащих везикулы и арбускулы. Результаты могут быть представлены в виде таблиц или рисунков.

При анализе внутривидовых и экологических особенностей развития АМ большое значение имеет учет особенностей формирования микориз в процессе индивидуального развития

автотрофа. Сбор образцов для этих целей необходимо проводить совместно с ценопопуляционными исследованиями. Время сбора материала должно быть ограничено, чтобы избежать влияния сезонной динамики микоризообразования. Откапывают корни 15–25 особей каждой возрастной группы, аккуратно отряхивают и закладывают в гербарий. В камеральных условиях корни обрабатываются по стандартной методике. В каждой возрастной группе особей должно быть просмотрено не менее 300 полей зрения. Для каждой возрастной группы вычисляются показатели развития АМ.

**Представление результатов.** Препарат арбускулярной микоризы корней представителей семейства сложноцветных. Рисунок АМ с обозначением гиф, визикул, арбускул и продуктов переваривания гриба. Количественные данные по частоте встречаемости ( $F$ , %) и степени развития АМ.

## Работа 2

### Изучение эктомикоризы

**Цель работы** — определить основные качественные и количественные морфоанатомические признаки строения эктомикориз деревьев.

#### **Материал и оборудование.**

1. Свежие или фиксированные образцы корней древесных и травянистых растений.
2. Микроскоп.

**Методы полевых исследований.** Исследование эктомикориз в любых экологических ситуациях и различных градиентах условий обосновано проводить как часть комплексных исследований природных сообществ. Поэтому пробные площади, на которых производится сбор материала, лучше всего совмещать с площадями, подобранными для исследования фитоценозов или экосистем. В любом случае пробные площади нужно описать, указав минимум стандартных характеристик: положение в рельефе; ландшафтное

окружение; состав древостоя, сомкнутость крон, характеристику возобновления; характеристики напочвенного покрова; морфологии почв, особенно верхних почвенных горизонтов.

**Сбор образцов для изучения корневых систем и микоризообразования.** Сбор образцов для изучения строения эктомикориз заключается в выкопке, т. е. извлечении из почвы фрагментов корневых систем, корневых мочек с корнями последних порядков. Это можно сделать двумя способами.

Первый способ предполагает извлечение образцов из почвенных навесок, проб, монолитов, прикопок и т. п. При этом невозможно строго установить принадлежность корней той или иной особи растения. Получаемые таким способом характеристики микориз относятся к сообществу в целом. Второй способ состоит в отборе проб корней строго идентифицированных особей. Так получают индивидуальные для особи количественные и качественные оценки строения эктомикориз.

В зависимости от задач работы можно использовать разные способы сбора образцов. Второй способ особенно подходит для исследования ювенильных особей древесных растений, т. е. всходов и подроста.

Перед отбором образцов необходимо ознакомиться с общими условиями на месте работы, а также с качественными морфологическими особенностями корней и корневых систем модельных видов. Сбор образцов необходимо проводить во всех намеченных точках в максимально сжатые сроки, так как сезонные различия в обилии и строении микориз могут быть значительными.

Корневые системы растений или их фрагменты осторожно выкапывают из почвы. В смешанных насаждениях для дифференциации корней разных видов деревьев их видовую принадлежность необходимо диагностировать в поле, прослеживая связь с основаниями стволов. Образцы с заметными повреждениями, с оборванными поглощающими и проводящими корнями выбраковываются в поле. Выбраковка особенно необходима, если планируется исследовать морфологические особенности корневых систем, т. е. определять плотность размещения детерминированных корней на недетерминированных. При исследованиях в градиентах условий должен

соблюдаться принцип отбора проб с одного и того же субстрата или из одного и того же почвенного горизонта.

В поле образцы удобно собирать, хранить и этикетировать в ЗИП-пакетах.

Образцы необходимо зафиксировать не позднее чем через 6–12 ч после выкопки. Универсальный фиксатор — 70 %-й этиловый спирт. Особи всходов можно фиксировать полностью, т. е. вместе с надземной частью. Удобный объем емкостей для фиксации 5–20 см<sup>3</sup>. Извлечение корневых систем особей деревьев в возрасте старше 2–5 лет, т. е. относящихся к категории крупного подроста и более старших, невозможно провести без повреждения и обрывов корней, поэтому в таком случае фиксировать можно только наименее поврежденные фрагменты.

При исследовании эктомикориз деревьев первого яруса извлечение неповрежденных корневых мочек — трудная задача. Лучше всего отбор образцов проводить из стенки траншеи или почвенного разреза, фиксируя почвенный горизонт. Во многих случаях при исследовании микориз взрослых растений приходится ограничиваться изучением их внутреннего строения, без анализа макроморфологических параметров микоризообразования. В таких случаях можно извлекать образцы микориз, не выкапывая разрезов, пользуясь лопатой или почвенными бурами, различными трубами и т. п.

Вопрос об *объемах материалов*, которые необходимо собирать в поле, а затем анализировать, — принципиальный для формирования представления о степени доверия к получаемым данным. *Поэтому перед началом любого исследования необходимо определиться, что будет учетной единицей на этапе анализа данных!* При изучении микориз возможны очень разные варианты учетных единиц: одно поле зрения микроскопа, один срез, одно корневое окончание, среднее значение признака для группы корней или срезов, среднее значение признака для особи или пробы, среднее значение признака для пробной площади. В экологически ориентированных исследованиях самые плохие варианты — первые, самые лучшие — последние. Понятно, что получить оценки для пробной площади гораздо дороже (требуется много времени и сил), чем получить оценку для одного корня. Поэтому планировать объем полевых



сборов надо очень тщательно. Минимальные объемы выборок для получения средних значений признаков эктомикориз с приемлемой точностью даже в относительно однородных экологических условиях значительны.

Для точной оценки макроморфологических признаков, таких, как особенности строения главного и боковых корней у сеянцев, плотность корней и микориз, доля микоризных корней, необходимо собирать и анализировать корни не менее чем у 25–30 особей (проб). При этом у каждой особи или в каждой пробе необходимо измерять не менее 500 мм недетерминированных (проводящих) корней.

Для точной оценки микроморфологических признаков, таких, как доля микоризных корней, степень развития чехла и сети Гартига, признаки внутреннего строения корней, необходимо собирать образцы не менее чем у пяти особей, лучше у 10–30, и анализировать не менее 10 отдельных эктомикориз (корней) у особи (в пробе).

**Методы камеральной обработки.** Камеральная обработка более трудоемка, чем полевой сбор материала. Основы анализа морфологических признаков эктомикориз описаны Н. В. Лобановым [Лобанов] и И. А. Селивановым [Селиванов, 1981].

Ключевые признаки подземных органов хвойных деревьев (самой важной группы эктомикоризных растений бореальной зоны), фиксация которых минимально необходима в экологически ориентированных исследованиях, следующие. На макроморфологическом уровне: 1) общая длина недетерминированных (проводящих) корней и доля боковых недетерминированных корней в ней (при исследовании ювенильных особей, у которых можно измерить всю корневую систему); 2) доля эктомикоризных корней (т. е. заселенных эктомикоризными грибами) от общего числа коротких детерминированных (поглощающих) корней. На микроморфологическом уровне: 1) поперечный размер (диаметр, радиус) корня; 2) толщина грибного чехла; 3) частоты встречаемости грибных чехлов плектенхиматического, псевдопаренхиматического, комбинированного и бесструктурного сложения.

Однако список параметров, которые можно фиксировать при изучении корней и эктомикориз, в реальности существенно шире.

**Макроморфологические признаки.** Строение целых корневых систем может быть исследовано только у ювенильных растений — проростков, одно- и двухлетних всходов. Измерения необходимо выполнять, поддерживая корни влажными в прозрачных пластиковых емкостях. Допустимая точность измерения длин корней — от 1 до 5 мм. Суммарная длина корней, которые необходимо измерить у особи, должна составлять не менее 500 мм или полную корневую систему.

Основные признаки корневых систем ювенильных особей: 1) длина главного корня (мм), измеряемая от точки перехода гипокотили в корень (корневой шейки) до апикального кончика главного корня; 2) число боковых недетерминированных корней первого порядка (экз.); 3) суммарная длина боковых недетерминированных корней первого и последующих порядков; 4) длина всех недетерминированных корней (мм).

Характеристики развития поглощающих корневых структур могут быть зарегистрированы не только у ювенильных растений. Подсчет удобно вести с использованием бинокулярной лупы с увеличением  $\times 2 \dots \times 10$ . Основная процедура — подсчет числа микоризных и немикоризных корней, размещающихся на определенной длине недетерминированных корней. Относительные характеристики, плотности, этих структур выражаются как числа соответствующих структур на 100 мм погонной длины недетерминированных корней. Необходимо определять: 1) плотность немикоризных детерминированных корней (экз/100 мм корней); 2) плотность эктомикоризных детерминированных корней или эктомикориз (экз/100 мм корней); 3) долю микоризных корней — отношение числа эктомикоризных корней к общей сумме детерминированных корней (немикоризные + эктомикоризные).

Различать немикоризные поглощающие корни и эктомикоризы можно с учетом следующих критериев: наличия корневых волосков у немикоризных корней; наличия характерного утолщения или ветвления у эктомикориз, наличия гифальных структур, часто разного цвета, на поверхности эктомикориз. Примеры разных структур показаны на рис. 3.35 и 3.36.

С разнообразием внешнего строения эктомикориз можно познакомиться на сайте проекта DEEMY [Agerer, Rambold].

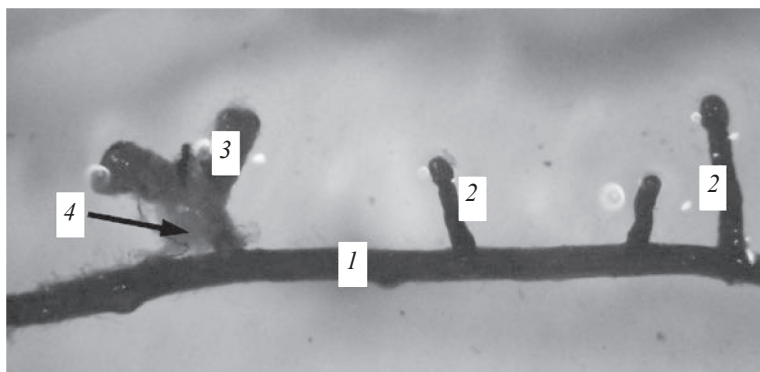


Рис. 3.35. Фрагмент недетерминированного проводящего корня  
*Pinus sylvestris*:

1 — недетерминированный корень; 2 — безмикоризный детерминированный корень; 3 — дихотомически ветвящаяся эктомикориза; 4 — скопление мицелия

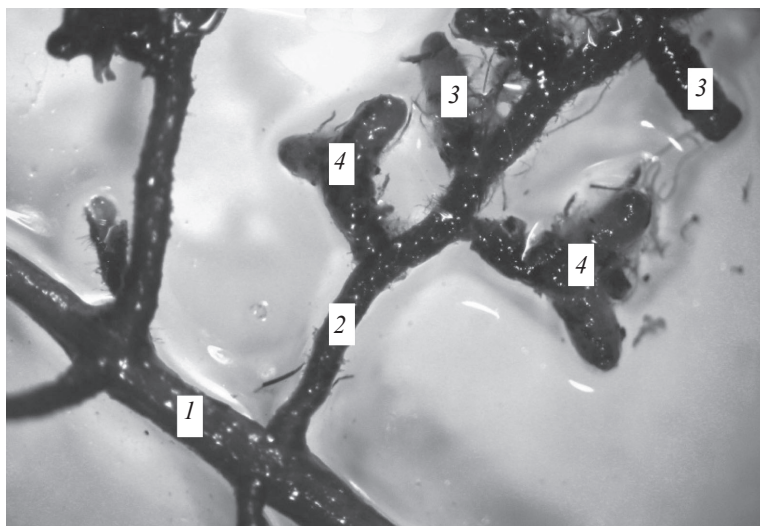


Рис. 3.36. Фрагмент главного корня сеянца *Pinus sylvestris*:

1 — главный корень; 2 — недетерминированный проводящий корень первого порядка; 3 — микоризный детерминированный неветвящийся булавовидный корень; 4 — дихотомически ветвящаяся эктомикориза

**Анатомические признаки.** Тонкие признаки внутреннего строения немикоризных и эктомикоризных корней исследуют на тонких поперечных срезах корней последних порядков ветвления. Не всегда это должны быть непосредственно окончания самого последнего порядка (рис. 3.37).

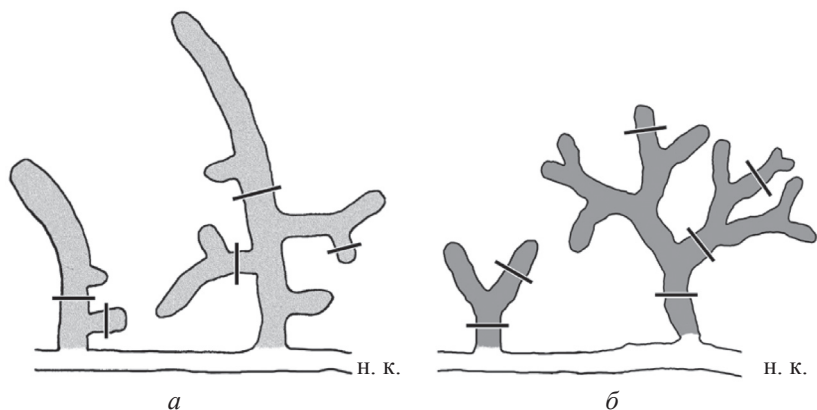


Рис. 3.37. Схемы внешнего строения эктомикориз темнохвойных (а) и сосны (б) (н. к. — недетерминированные корни; секущие линии — места изготовления срезов)

Срезы удобно готовить на замораживающем ротационном микротоме, просматривать и измерять в глицерине с предварительным окрашиванием или без.

Корни для приготовления срезов необходимо отбирать из общей пробы *случайно*. Например, можно использовать выбор с закрытыми глазами или бросать перед выбором в емкость с корнями бусинки или дробинки и брать для анализа ближайшие к ним корневые окончания. Только так можно получить по итогам анализа несмещенные оценки соотношения микоризных и немикоризных корней.

На одном препарате, т. е. под одним покровным стеклом, одновременно можно помещать срезы 2–3 разных корней. Большое анатомическое разнообразие корней (рис. 3.38), позволяет легко идентифицировать в одном препарате срезы, изготовленные с разных корней.

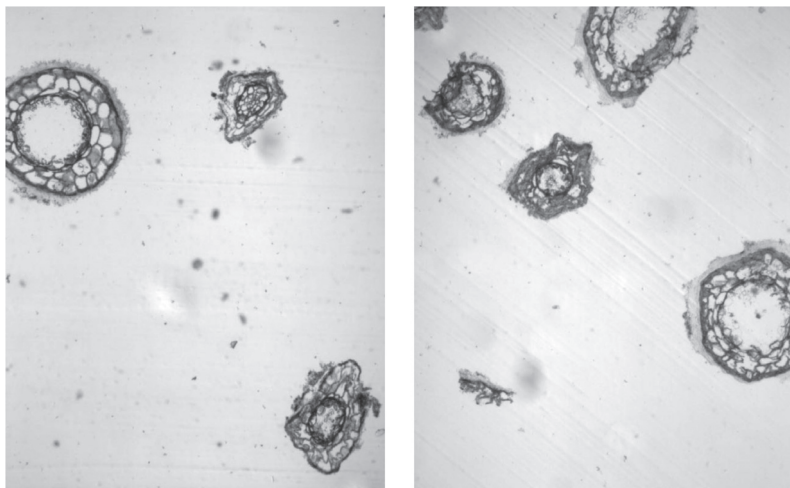


Рис. 3.38. Примеры полей зрения готовых к измерению микроскопических препаратов, содержащих срезы с разных корней каждый

Признаки строения, которые могут быть зафиксированы при изучении срезов, могут быть сведены в три крупные группы, которые рассмотрим отдельно:

1) наличие или отсутствие чехла на поверхности корня или проявление других признаков, свидетельствующих о заселенности корня (экто)микоризным грибом; в результате получается информация о соотношении числа микоризных/немикоризных корней в выборке — характеристика доли микоризных корней;

2) признаки тонкого анатомического строения (сложения) грибных чехлов, фиксируемые безотносительно к их размерам;

3) проявление размерных и качественных признаков строения корней в целом и растительного и грибного компонентов по отдельности — группа характеристик «строение эктомикориз».

Основной признак, учитываемый при упорядочивании структурного разнообразия грибных чехлов, — тип сложения:

1) плектенхиматический, когда в грибном талломе различимы отдельные гифы, т. е. цепочки более или менее вытянутых клеток (рис. 3.39);

2) псевдопаренхиматический, когда отдельные гифы неразличимы из-за расширения и потери клетками гриба исходной гифальной формы (рис. 3.40). При световой микроскопии иногда не удается идентифицировать сложение чехлов. Тогда они могут быть определены как бесструктурные чехлы.

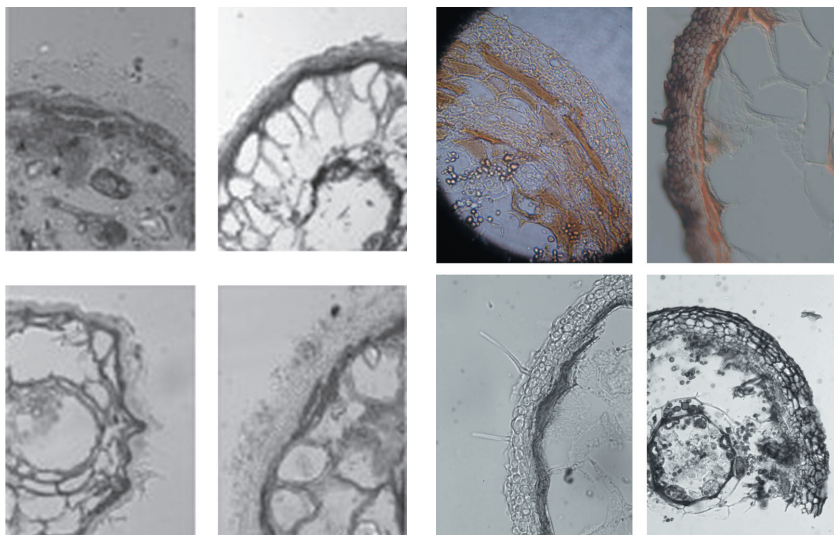


Рис. 3.39. Фрагменты срезов  
эктомикоризных окончаний  
с плектенхиматическими  
чехлами

Рис. 3.40. Фрагменты срезов  
эктомикоризных окончаний  
с псевдопаренхиматическими  
чехлами

В определенной степени, но не строго, тип сложения связан с систематическим положением грибного симбионта. Плектенхиматическое сложение наружных слоев чехлов характерно для базидиомицетов порядков Boletales, Cantharellales, Cortinariales, Tricholomatales, вероятно также для Gomphales [Morphological and molecular...] (названия порядков по: [Agerer]). Преимущественно псевдопаренхиматическим сложением наружных слоев чехлов обладают аскомицеты — Pezizales, *Cenococcum*, *Tuber*. Среди важных для бореальных лесов эктомикоризных грибов порядков Russulales и Thelephorales есть виды как с плектенхиматической, так и с псевдопаренхиматической структурой чехла.



В результате идентификации чехлов в более или менее крупных выборках корней получаются оценки соотношения микоризных и немикоризных корней (срезов) и соотношений эктомикориз с чехлами основных типов сложения: плектенхиматическими, псевдопаренхиматическими, комбинированными и бесструктурными.

На тех же срезах, на которых изучается наличие и сложение чехлов, одновременно делается комплекс промеров и характеристик, которые могут относиться к описанию грибных чехлов, таниновых клеток, сети Гартига (рис. 3.41, 3.42).

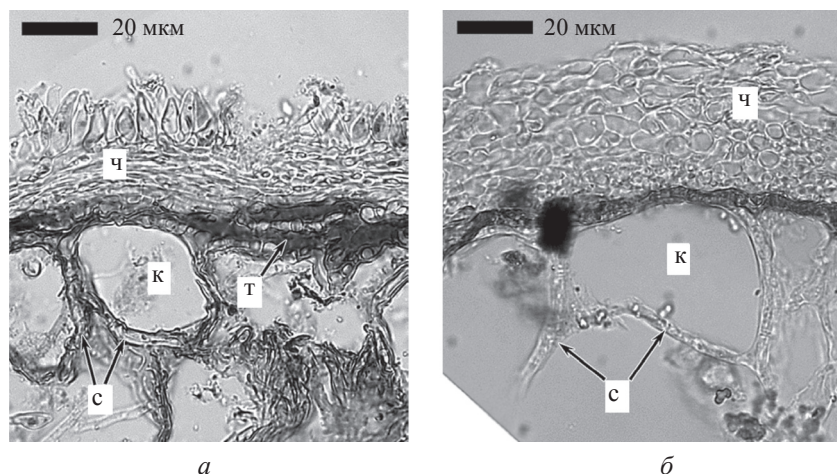


Рис. 3.41. Фрагменты поперечных срезов эктомикориз *Pinus sylvestris* с плектенхиматическим чехлом подтипа Е (а) и псевдопаренхиматическим чехлом подтипа Q (б);

к — клетки коры корня; с — сеть Гартига; т — таниновые клетки; ч — грибной чехол. Масштабный отрезок — 20 мкм

Могут быть измерены:

1) общий радиус окончания,  $r_1$  (мкм), от центра центрального цилиндра корня до наружной кромки чехла; выбор в пользу фиксации радиуса, а не диаметра, как рекомендовано в значительном числе руководств экофизиологического плана, сделан из соображений обеспечения наибольшей сравнимости получаемой величины с толщиной грибного чехла;

2) толщина грибного чехла,  $m$  (мкм). У рыхлых чехлов толщину можно не определять;

3) радиус корня растения в эктомикоризном окончании,  $r_2$  (мкм), определяют расчетным способом как разность величин  $r_1$  и  $m$ ;

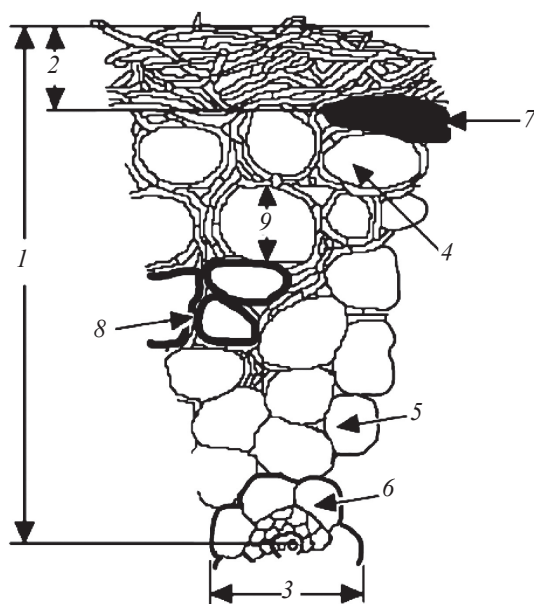


Рис. 3.42. Схема строения эктомикоризного окончания и его основных промеров и характеристик:

$l$  — общий радиус окончания; 2 — толщина грибного чехла; 3 — диаметр тканей, ограниченных эндодермой; 4 — два-четыре слоя клеток коры корня, оплетенных гифами гриба и образующими сеть Гартига; 5 — два слоя клеток коры корня, не оплетенных гифами гриба; 6 — эндодерма; 7 — таниновая клетка на границе между корнем и чехлом; 8 — группа клеток коры с потемневшими клеточными стенками; 9 — диаметр клетки коры корня

4) на основании параметров  $r_1$  и  $r_2$  рассчитывают парциальный объем чехла или долю чехла в объеме эктомикоризного окончания ( $d$ ) по формуле

$$d = \frac{r_1^2 - r_2^2}{r_1^2} \cdot 100\%.$$



Помимо размерных можно зафиксировать качественные признаки;

5) встречаемость или отсутствие в корне (преимущественно в наружных слоях коры) таниновых клеток — уплотненных клеток с темноокрашенным содержимым;

6) общее сохранение или потеря состояния тургора нетаниновыми клетками паренхимы коры корня.

***Представление результатов.*** Результаты регистрации всех промеров удобно заносить в специально сформированные бланки таким образом, что можно было охарактеризовать каждое измеренное окончание полным комплексом характеристик.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Назовите основные признаки арбускулярной микоризы.
2. Назовите основные признаки эктомикоризы.
3. Назовите основные признаки арбуроидной и эрикоидной микоризы.
4. Назовите основные признаки орхидной микоризы.
5. Каковы основные этапы приготовления препаратов при изучении арбускулярной микоризы?
6. Каковы основные этапы приготовления препаратов при изучении эктомикоризы, арбуроидной, эрикоидной и орхидной микоризы?

## 4. МЛЕКОПИТАЮЩИЕ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

Млекопитающие — наиболее изученная в отношении морфологического строения, структуры популяции и параметров изменчивости группа живых организмов. Уже поэтому привлечение подходящих к каждому конкретному случаю видов этого класса в биоиндикационные исследования не только допустимо, но и желательно. Более того, поскольку человек относится к тому же классу, то многие реакции его организма на то или иное воздействие на всех уровнях организации будут сходными с реакциями индикаторных видов, вследствие чего использование в качестве биоиндикаторов млекопитающих нередко позволяет решить ряд медико-биологических проблем.

Еще одно немаловажное достоинство использования млекопитающих в экологическом мониторинге — это относительная доступность их для коллектирования и наблюдения, причем наблюдения как самих животных, так и следов их жизнедеятельности (в том числе и собственно следов), которые нередко могут быть сами по себе наблюдаемыми параметрами, служащими для оценки отслеживаемого антропогенного воздействия на биогеоценозы.

### Работа 1

#### Основные параметры биоразнообразия мелких млекопитающих

**Цель работы** — освоить методы сбора и определения мелких млекопитающих и выявить основные параметры биоразнообразия их сообществ и популяций.

**Содержание и ход работы.** Использование млекопитающих в целях экологического мониторинга эффективнее всего проводить

в терминах биологического разнообразия. Наиболее массовый материал, необходимый для анализа состояния биоты, надежнее всего получить на наиболее многочисленной (и поэтому играющей в экосистемах очень важную роль) группе млекопитающих — мелких млекопитающих. Традиционно к ним относят мелких наземных грызунов и насекомоядных из семейства *Soricidae*.

Сохранение показателей биоразнообразия в составе и структуре какой-либо группы организмов на той или иной территории обычно свидетельствует о нормальном функционировании биоты изучаемой территории, тогда как отклонения являются показателями нарушений в состоянии биогеоценозов. Наиболее эффективно для мониторинговых исследований изучение биоразнообразия на уровне структуры сообществ мелких млекопитающих, а также на популяционном уровне. В первом случае прослеживается динамика видового состава и численности всех видов, входящих в состав совокупностей (сообществ, или гильдий), образующих население изучаемой территории. Во втором случае наиболее наглядны интерьерные показатели особей, составляющих популяции наиболее обильных видов, образующих на ней население мелких млекопитающих. Такие интерьерные показатели отражают напряженность энергетических взаимоотношений этих животных со средой их обитания [Шварц и др.; Большаков и др.].

Полевой этап работы заключается в сборе мелких млекопитающих в природе. Для того чтобы получить сравнительные оценки параметров разнообразия, сбор данных необходимо производить на двух участках — на наблюдаемой (исследуемой) территории, находящейся под воздействием фактора, и на эталонном участке, не измененном антропогенными воздействиями или измененном в минимальной степени. Обычно такие контрольные площадки выбираются на особо охраняемых природных территориях (ООПТ). Чтобы полученные оценки были валидны, должны быть соблюдены определенные условия при выборе исследуемого и контрольного участков.

Во-первых, необходимо сходство изначальных ландшафтно-экологических условий на сравниваемых участках, что означает сходство погодно-климатических условий, рельефа, гидрологических условий, растительного покрова на наблюдаемом участке.

Во-вторых, места проведения наблюдений должны быть четко определены, топографически зафиксированы, неизменны в течение длительного времени, легкодоступны для проведения исследований; должны обеспечивать возможность проведения комплекса наблюдений (сбор проб для оценки степени загрязнения, фено-, фито-, энтомо-, дендрологические наблюдения, наблюдения за состоянием населения мелких млекопитающих и т. д.).

В-третьих, должны быть также обозначены, привязаны к четко определяемым фенологическим событиям сроки конкретных наблюдений.

В-четвертых, сбор данных должен проводиться на постоянных (стационарных) учетных линиях, располагаемых в типичных, местообитаниях, как на контрольной территории, так и на исследуемой. На территориях с равнинным ландшафтом минимальное количество подлежащих обследованию местообитаний должно соответствовать двум крайним элементам на ландшафтно-экологическом профиле местности — плакору, или водоразделу (элювиальная часть биогеохимической катены в ландшафте) и пойме основной водной артерии или основного водоема этой территории (аккумулятивная часть биогеохимической катены в ландшафте). На плакоре в качестве участка для наблюдений выбирается биотоп, соответствующий типичным зональным (наиболее распространенным климатским или при их отсутствии субклиматским) лесным биоценозам на контрольном участке и наиболее значимым антропогенно измененным местообитаниям на наблюдаемом участке. В пойме выбирается биотоп, соответствующий наиболее распространенному в данной местности пойменному азональному лесному биоценозу на контрольном участке, и биотоп, возникший на его месте на наблюдаемом участке.

Выбор тех или иных биотопов проводится в обоих случаях на основе оценок площади распространения соответствующих лесных биоценозов по данным последнего по времени проведения лесоустройства. На территориях с горным или увалистым рельефом минимальное число местообитаний, в которых проводятся мониторинговые наблюдения, должно соответствовать вертикальной дифференциации биоценотического покрова, т. е. стационарные

учетные линии должны располагаться в наиболее представленных (типичных) коренных биоценозах различных высотных поясов.

Сбор мелких млекопитающих на стационарных учетных линиях проводится ежегодно дважды за генеративный период (сезон размножения), который в целом совпадает с вегетационным периодом растений. Первый тур учетных отловов проводится в начальный период сезона размножения, т. е. во второй половине мая — первой половине июня, второй тур отловов — во второй половине августа — первой половине сентября. Различия погодных условий отдельных лет обуславливают сдвиг сроков начала и конца генеративного периода и соответственно проведения учетов. Первый тур отловов следует проводить сразу после окончания цветения черемухи, второй — в период осеннего расцветивания листьев — начала листопада.

Каждая учетная линия состоит из 25 расставленных в одну линию через 5 м друг от друга на поверхности земли ловушек Геро. Каждая ловушка при постановке на местности снаряжается приманкой, представляющей собой кубик хлеба размером около 1 см<sup>3</sup>, смоченного нерафинированным растительным (подсолнечным) маслом. При необходимости (в случаях, если она объедена, высохла или, наоборот, размокла) приманка заменяется на новую. Один тур отловов на каждой стационарной линии продолжается четверо суток. Проверка ловушек и сбор пойманных животных проводится один раз в сутки в утренние часы (чем теплее погода, тем раньше) с таким расчетом, чтобы минимизировать их порчу хищниками, падальщиками и вследствие разложения.

Все собранные при проверке учетных линий животные в тот же день осматриваются с целью предварительного определения видовой принадлежности и подвергаются первичной обработке по методике, описанной в справочнике-определителе «Млекопитающие Свердловской области» [Большаков и др.]. Фиксируются их видовая принадлежность (предварительно), дата поимки, место поимки (местообитание), пол, возраст (предварительно), общий вес, длина тела, хвоста, задней ступни, уха, состояние генеративных органов (вес семенников у самцов, наличие или отсутствие эмбрионов или желтых тел беременности и их количество у самок), наличие или

отсутствие тимуса, вес отпрепарированных сердца, печени, почки, надпочечника. Особенности техники препарирования внутренних органов описаны в соответствующем разделе книги С. С. Шварца с соавторами [Шварц и др.]. Все вышеперечисленные данные о каждом животном, полученные в результате первичной обработки, заносятся в полевой журнал учета в виде отдельных таблиц на каждый тур отловов. На этом заканчивается полевой этап.

**Представление результатов.** Очищенные от мягких тканей черепа пойманных животных и их шкурки (в случае, если они также коллектируются), которые используются для окончательного определения видовой принадлежности и уточнения возраста каждого пойманного животного. Полевой журнал (в виде табл. 4.1) служит основной формой представления результатов.

Таблица 4.1

**Структура населения мелких млекопитающих (грызуны)**

Вид	Биотоп			
	Контроль		Наблюдаемый участок	
	Относительная численность	Доля, % $P_i$	Относительная численность	Доля, % $P_i$
А				
В				
С				
...				
Н				
Е				

## Работа 2

### Параметры биоразнообразия сообществ мелких млекопитающих

**Цель работы** — сравнить биоразнообразие сообществ мелких млекопитающих на контрольном и наблюдаемом участках.

**Содержание и ход работы.** В камеральных условиях проводится анализ параметров биоразнообразия сообществ мелких млекопитающих как индикаторов состояния экосистем наблюдаемого региона или локалитета. Суть его состоит в том, что два таких трофически различных компонента экосистем, как грызуны (консументы первого порядка) и насекомоядные (по своей трофической сути хищники), отражают состояние двух важнейших трофических цепей в экосистемах. Поэтому динамика структуры сообществ грызунов и землероек может продемонстрировать наличие или отсутствие негативных изменений в этих экосистемах в целом.

Для анализа динамики биоразнообразия сообществ необходимо провести инвентаризацию животных, отловленных на учетных линиях. Инвентаризация заключается в том, что составляются сводные таблицы, в которых приводятся данные о видовом составе и относительной численности мелких млекопитающих на каждой учетной линии отлова. На основании этих данных рассчитывается доленое участие каждого вида в сообществах мелких млекопитающих для контрольного и наблюдаемого участков. В совокупности эти параметры, т. е. видовой состав, относительная численность каждого вида и его доленое участие в сообществе, составляют основной каркас структуры описываемых сообществ. Доленое участие видов в сообществе грызунов и насекомоядных следует рассчитывать отдельно по каждой группе, поскольку слишком различна их трофическая специфика. Но следует обязательно включать в число анализируемых параметров общее соотношение грызунов и насекомоядных, поскольку сдвиги в этих соотношениях на разных участках могут свидетельствовать о серьезных изменениях в системе биомассы травянистых растений или биомассы почвенной мезофауны.

Кроме структурных параметров сообществ в анализе необходимо использовать и некоторые параметры, характеризующие собственно их разнообразие. К таким параметрам относятся индексы разнообразия и индексы выравненности и/или невыравненности. Индексом разнообразия, показывающим видовое богатство сообщества, является собственно число видов, составляющих это сообщество. Индексы выравненности (или невыравненности) показывают, насколько равномерно (или неравномерно) распределены эти виды в сообществе по численности. Простейшим из них является так называемый индекс доминирования, который представляет собой просто долю в сообществе наиболее многочисленного вида. Разработано очень много индексов разнообразия и выравненности [Лебедева и др.; Мэгарран; Песенко]. Для случаев описания биоразнообразия сообществ мелких млекопитающих наиболее подходящим параметром разнообразия можно принять основанный на информационной мере индекс разнообразия Шеннона — Уивера:

$$H' = -\sum p_i \cdot \ln \cdot p_i,$$

где величина  $p_i$  — доля особей  $i$ -го вида.

В соответствии с этим целесообразно использовать основанный на этой мере показатель выравненности:

$$E = \frac{H'}{\ln \cdot S},$$

где  $S$  — число видов, входящих в сообщество.

В качестве конкретного примера можно рекомендовать статью А. Г. Васильева и др. [Васильев и др.], в которой показан не только подход к исследованию, но и тренд многолетних изменений структуры биоразнообразия мелких млекопитающих Оренбургской области.

**Представление результатов.** На основании полученных результатов необходимо сделать заключение о наличии или отсутствии различий в биоразнообразии сообществ мелких млекопитающих на контрольном и наблюдаемом участках и соответственно заключение о состоянии биоты наблюдаемого участка. Заключение оформить в виде отчета, включающего таблицы (для землероек и грызунов) и графики (табл. 4.2).



**Структура населения мелких млекопитающих (землеройки)**

Вид	Биотоп	
	Относительная численность	
	Контроль	Наблюдаемый участок
А		
В		
С		
...		
Н		
Е		

Анализ изменения параметров биоразнообразия сообществ мелких млекопитающих позволяет охарактеризовать общее состояние биоты экосистем той территории, на которой проводится экологический мониторинг. Он может быть дополнен анализом внутрипопуляционного биоразнообразия основных (наиболее массовых) видов. Конкретными механизмами приспособления животных, составляющих популяцию или внутрипопуляционную группировку, являются физиологические механизмы, в первую очередь реагирующие на изменение условий существования. Несомненна также связь интенсивности функционирования тех или иных физиологических механизмов с размерами и весом органов, осуществляющих эти функции. На этом основан метод морфофизиологических индикаторов, разработанный в Институте экологии растений и животных под руководством академика С. С. Шварца [Шварц]. Метод широко использовался в экологических исследованиях, и хотя в настоящее время есть более точные методы, он востребован и сейчас, поскольку позволяет в полевых условиях при минимальном количестве оборудования получить первое представление об особенностях биологии и адаптации млекопитающих к окружающей среде [Яскин; Оленев, Григоркина]. Результаты регистрации всех промеров удобно заносить в специально сформированные бланки таким образом, чтобы можно было охарактеризовать каждое измеренное окончание полным комплексом характеристик.

Одной из основных характеристик степени адаптации организма животных к условиям существования является напряженность энергетического обмена, различные аспекты которого находят свое отражение в размерах (весе) главным образом таких органов, как сердце, печень, почка, надпочечник. Например, величина индекса сердца связана главным образом с энергозатратами на двигательную активность и химическую терморегуляцию; индекс печени тесно связан с кормовой обеспеченностью, т. е. с возможностями получения энергии; индекс почки отражает энергетику водно-солевого обмена, индекс надпочечника — энергетику размножения и общей стрессированности особи.

Эти данные используют для предварительного выявления наличия или отсутствия различий по тем или иным морфофизиологическим параметрам между сравниваемыми группами животных.

Далее необходимо провести сравнительную оценку значимости выявленных различий. В любом случае необходимо, кроме сравнения различий по средним, сравнивать и размах изменчивости анализируемых параметров, поскольку в настоящее время известно, что на неблагоприятных по своим экологическим условиям территориях нередкое явление — увеличение изменчивости (т. е. разнообразия) целого ряда показателей, характеризующих состояние биосистем, при сходстве или даже равенстве их по средним величинам. Современные компьютерные программы по статистике предлагают большой набор методов проведения таких сравнительных оценок, что показано в последнем разделе настоящего практикума.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Назовите основные приемы сбора мелких млекопитающих.
2. Каково значение использования мелких млекопитающих в экологическом мониторинге?
3. Биоразнообразие как показатель сохранения/изменения экосистем и их отдельных компонентов.
4. Перечислите основные положения метода морфофизиологических индикаторов.

## 5. ОБЛАЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КАК ИНСТРУМЕНТ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ

Применение компьютерных технологий и работа в Сети является необходимым элементом современного научного эксперимента, а задачи сохранения больших объемов данных или их обработки совместно несколькими пользователями становятся очень актуальными. Знание принципов и методик использования специального программного обеспечения позволяет применить их для обработки, оформления, хранения результатов исследований, измерений и наблюдений. Данный раздел предполагает наличие у студентов знаний основ информатики, математической статистики и статистических методов в экологии.

Облачные технологии — это технологии обработки данных, в которых компьютерные ресурсы предоставляются интернет-пользователю как онлайн-сервис. Слово «облако» здесь присутствует как метафора, олицетворяющая сложную инфраструктуру, скрывающую за собой все технические детали [[https://ru.wikipedia.org/wiki/Облачные вычисления](https://ru.wikipedia.org/wiki/Облачные_вычисления)]. Для облачных технологий самой главной особенностью является неравномерность запроса интернет-ресурсов со стороны пользователей. Чтобы сгладить данную неравномерность, применяется еще один промежуточный слой — виртуализация сервера. Таким образом, нагрузка распределяется между виртуальными серверами и компьютерами.

Для оценки воспользуемся такими характеристиками, как интерфейс, функциональность и соотношение цены и качества продукта. Рейтинг — это их среднее значение. В качестве источника информации используется статья [<https://www.softhome.ru/article/programmy-dlya-hraneniya-dannyh#collection-1000832>].

Рынок облачных вычислений представлен на рис. 5.1.

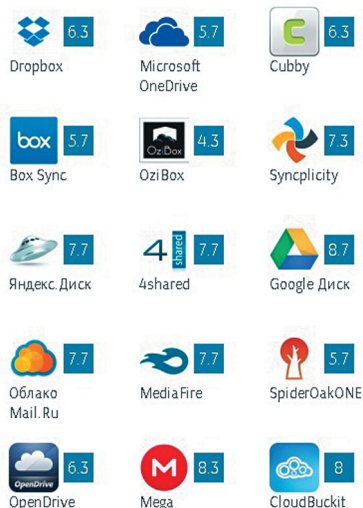


Рис. 5.1. Сравнительный обзор популярных «облачных» хранилищ

## Работа 1

### Создание и использование Google Disk

В работе изучаются возможности создания облачного хранилища с момента создания своего аккаунта и его синхронизации с хранилищем, создание его элементов, размещение и получение данных, организация доступа к данным.

**Цель работы** — научиться создавать и работать с Google DISK.

**Техническое и программное обеспечение.** Персональный компьютер или планшет, доступ в Интернет.

**Ход работы.** Ознакомьтесь с описанием работы [<https://support.google.com>].

1. Для работы необходимо создать аккаунт на gmail.com или воспользоваться существующим.

2. Зарегистрируйтесь в Google: имя, фамилия.

3. Придумайте имя пользователя: @gmail.com. Или используйте текущий адрес электронной почты. С этим адресом электронной почты уже связан аккаунт Google.

4. Войдите в аккаунт или восстановите пароль, если забыли его.

5. Затем откройте в его адресной строке: <http://support.google.com/drive/answer/2374987>, где описан процесс установки приложения на компьютер или планшет, и выберите нужное (рис. 5.2).

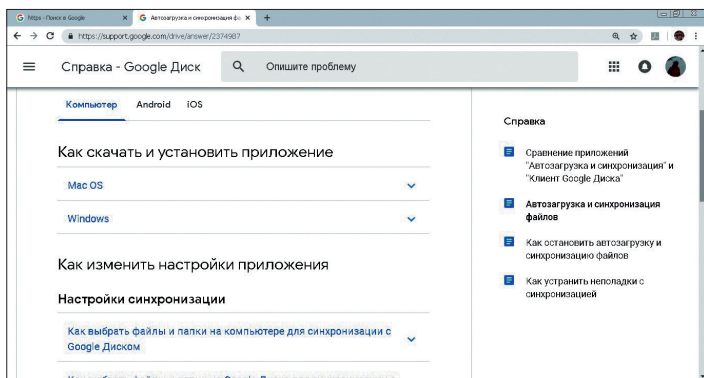


Рис. 5.2. Выбор варианта установки

6. После установки приложения можно войти на свой Google DISK из почты или со страницы [<https://www.google.com/drive/download/>] (рис. 5.3).

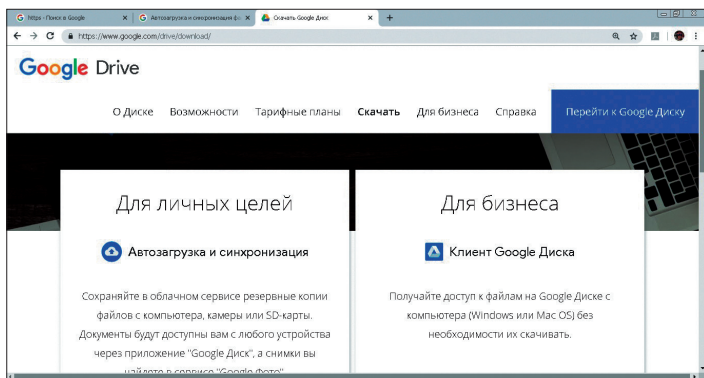


Рис. 5.3. Переход к диску

7. Выберите свой вариант (для личных целей или для бизнеса), затем перейдите к своему диску [<https://drive.google.com/drive/my-drive>] (рис. 5.4).

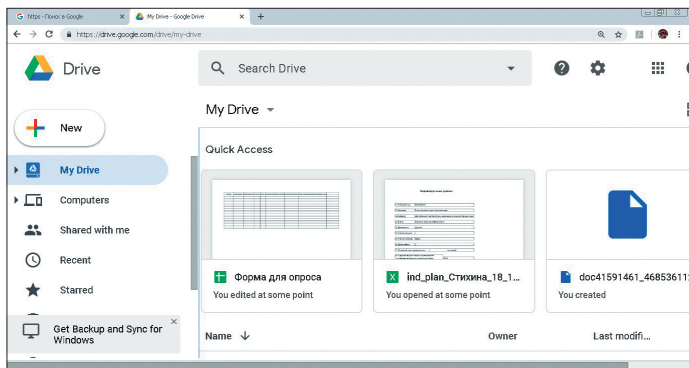


Рис. 5.4. Страница диска

Вам доступно 15 GB дискового пространства (облака), при необходимости его можно расширить. Теперь можно работать с ним так же, как с диском вашего компьютера. Создавать папки, переносить и копировать информацию можно, просто перетаскивая их с рабочего стола или используя пункт меню My Drive (рис. 5.5).

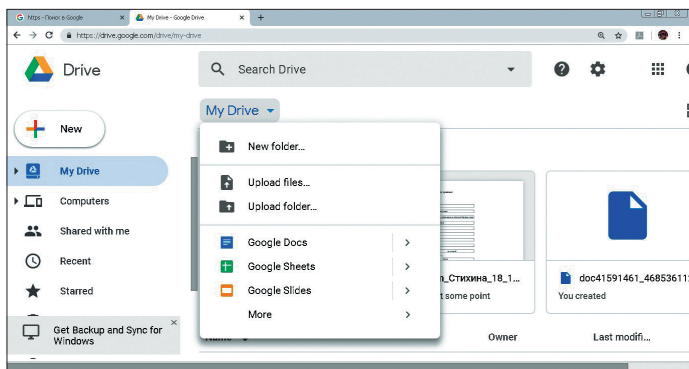


Рис. 5.5. Операции на диске

8. Создайте на диске папку Отчет. Переместите в нее ранее созданный на компьютере файл с вашей информацией.

9. Выберите созданную папку из контекстного меню (правая кнопка мыши) операцию создания ссылки (рис. 5.6).

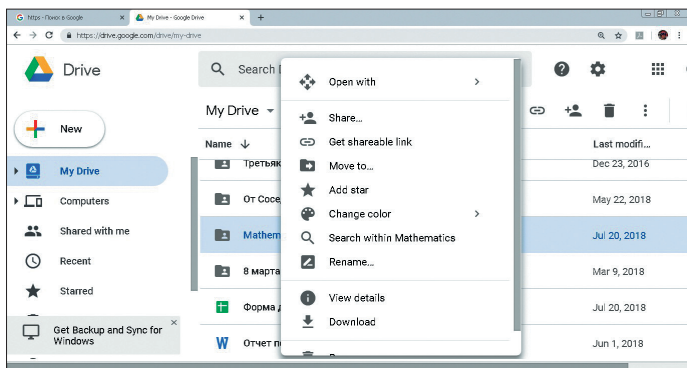


Рис. 5.6. Создание ссылки

10. Если предполагается совместная работа несколькими пользователями, полученный результат разошлите по электронной почте, сделав дополнительные настройки (рис. 5.7).

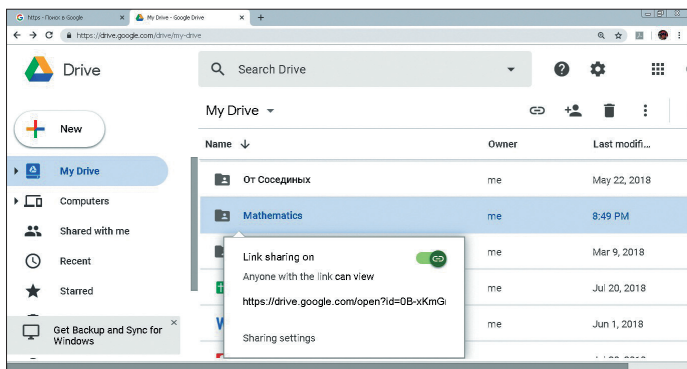


Рис. 5.7. Копирование ссылки  
или ее рассылка по известным адресам

**Представление результатов.** Создать Google DISK, внутри диска создать папку «Отчет по проекту». В нем составить календарный план работы. Подготовить форму для опроса. Подготовить отчет

и открыть доступ преподавателю для просмотра и редактирования отчета, отправить ему на электронную почту ссылку.

## Работа 2

### Использование сервиса Google «Календарь»

Календарь удобно использовать для записи нужных событий, редактирования, информирования. Его можно использовать при необходимости для личных или общих записей. Ознакомьтесь с документацией (описанием инструментов) по теме [<https://support.google.com>].

**Цель работы** — научиться использовать приложение «Календарь», планировать и отслеживать события для организации персональной и коллективной работы над проектом.

**Техническое и программное обеспечение.** Персональный компьютер или планшет, доступ в Интернет.

#### *Ход работы.*

1. Составить план работы над курсовым проектом и отслеживать его выполнение. Для этого выбрать «Календарь» из списка приложений (рис. 5.8):

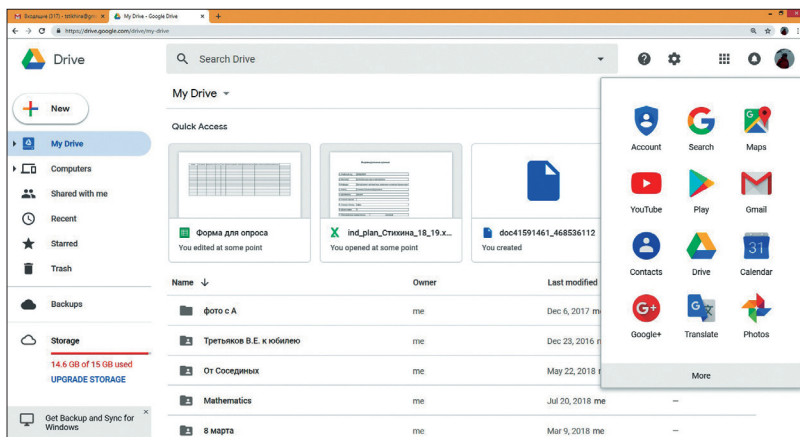


Рис. 5.8. Вход в приложение



2. В «Календаре» выделены периоды: сегодня, месяц, год, неделя. При необходимости можно выбрать иные (рис. 5.9).

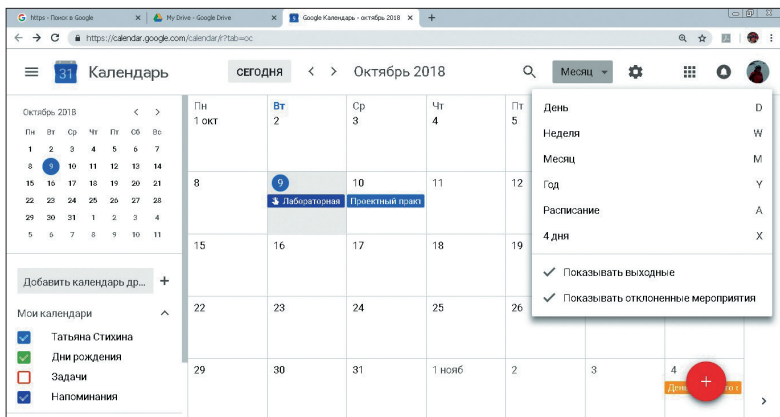


Рис. 5.9. Перечень возможных периодов

3. Выберите день и добавьте событие или отредактируйте старое (рис. 5.10).

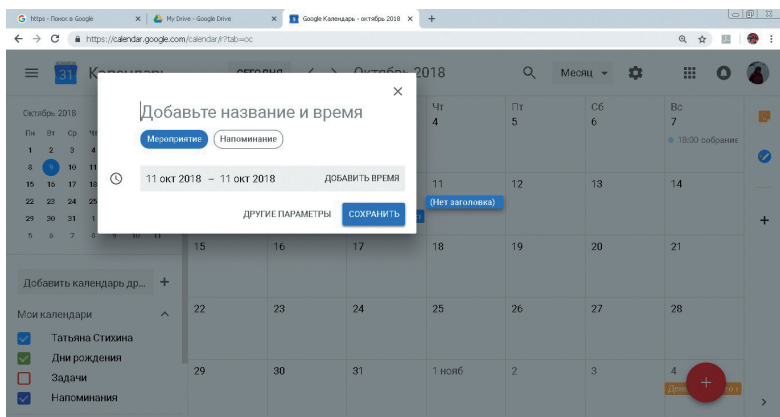


Рис. 5.10. Ввод данных о событии

После добавления информации о событии «**Новое событие**» появится в окне.

#### 4. Выделите основные этапы работы:

- построение плана исследования;
- консультация;
- чтение литературы и электронных ресурсов;
- консультация;
- выполнение исследования и сбор данных;
- консультация;
- обработка данных;
- консультация;
- выводы;
- консультация;
- подготовка отчета;
- консультация.

Период с 1 июля до 30 июля 2018 г. Материалы можно выложить на свой Google DISK и открыть к ним доступ своему руководителю.

5. Для повторяющихся событий введите событие первый раз и в опции «**Повторить**» выберите интервал повторения (рис. 5.11).

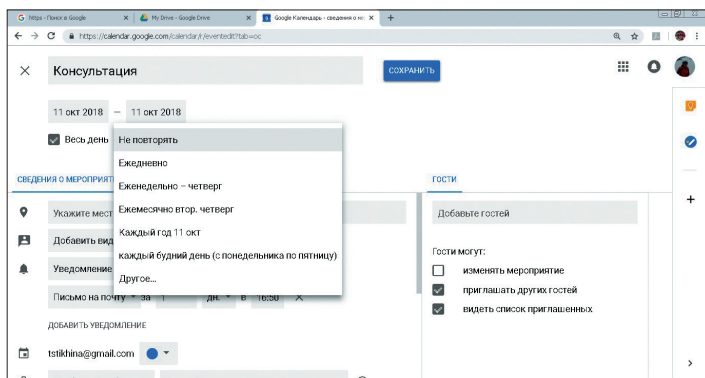


Рис. 5.11. Ввод интервала для повторяющихся событий

6. Выбрав пункт меню «**Настройки**» — «**Распечатать**», создайте копию в виде файла в формате PDF.

7. Если вам необходимо уведомить о событии несколько персон, воспользуйтесь рассылкой по электронной почте с подтверждением (рис. 5.12).

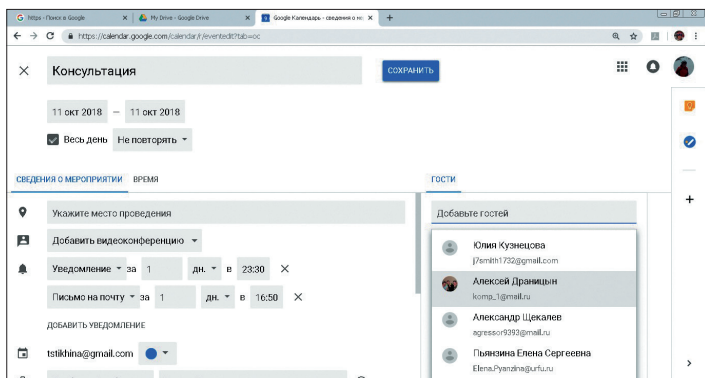


Рис. 5.12. Построение списка рассылки


**Представление результатов.** Создайте ваш план работы, выберите напоминание и уведомления для нужных событий. Откройте доступ для просмотра преподавателю.

## Работа 3

### Использование стандартных инструментов Google для работы с документами. Подготовка анкеты и сбор данных. Обработка результатов и визуализация

**Цель работы** — научить студентов пользоваться облачными приложениями для создания и первичной обработки информации.

**Техническое и программное обеспечение.** Персональный компьютер или планшет, доступ в Интернет.

**Ход работы.** Подготовьте форму для сбора информации, прикрепите ее к таблице, разошлите ссылку на форму своим знакомым. Проанализируйте полученные данные, используя встроенные функции и диаграммы. Выполните анализ данных, используя механизм «Анализ данных» с помощью значка  в правом нижнем углу

таблицы ответов. Ознакомьтесь с описанием инструментов для анализа данных (документацией) по теме [<https://support.google.com>].

1. Откройте свой диск и выберите «Мой диск».
2. Разверните список приложений (рис. 5.13).

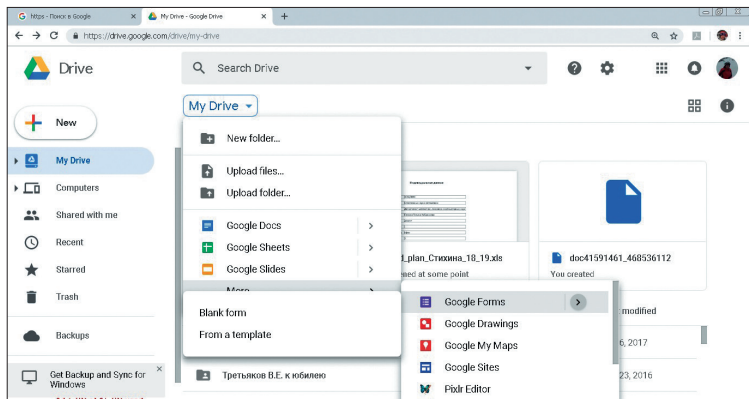


Рис. 5.13. Просмотр списка приложений

В первом списке стандартные документы (текстовые, табличные, слайды), которые легко синхронизируются с документами MS Office. Пункт «**More**» дает расширение списка формами, рисунками, картами и др.

3. Выберите Google Forms, определитесь, подходят ли вам готовые шаблоны или вы создадите свой.

4. Создайте форму с полями:

— псевдоним, возраст, рост, вес — краткий ответ;

— пол, тип телосложения, тип питания — выбор из списка (рис. 5.14).

5. Выберите в закладке «**Responses**» способ сохранения — «**View responses in Sheets**», которая будет создана по формату формы на вашем диске. Тем самым вы создадите еще один документ, в который будут складываться ответы (рис. 5.15).

6. Выберите на диске документ с формой и создайте ссылку.

7. Разошлите ее вашим респондентам. Ответы будут собираться в таблице «**Ответы на форму**».

8. В пункте меню таблицы «**Вставка**» вычислите средние показатели и другие статистические функции.

Рис. 5.14. Построение формы опроса

1	Timestamp	Ваш псевдоним	Возраст(полных лет)	Рост в см	Вес в кг	Количество потребляемых калорий в день	Количество шагов в день	Время
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								

Рис. 5.15. Документ «Таблица ответов»

9. При необходимости отфильтруйте данные по полу или возрастной группе и снова выполните анализ.
10. Вставьте диаграммы, иллюстрирующие результаты.
11. Отправьте ссылку преподавателю для просмотра.

**Представление результатов.** Предоставить преподавателю доступ к форме и таблице, создав ссылку.

## Работа 4

### Работа с картами, создание маршрута

**Цель работы** — научиться подключать карты и строить маршруты, делиться информацией с потенциальными пользователями.

**Техническое и программное обеспечение.** Персональный компьютер или планшет, доступ в Интернет.

**Ход работы.** Работа с картами и геоинформационными объектами становится более удобной в связи появлением облачных технологий. Так как эти объекты традиционно занимают значительное место в памяти компьютерных устройств, возможность доступа к ним в облачных хранилищах делает эти объекты доступными не только с компьютера, но и с мобильных устройств.

Подключить Google my maps и выбрать карту нашего города. Выделить на ней все здания УрФУ, сделать фотографию и прикрепить к созданным ссылкам, выделить парки, сады нашего города и построить маршрут от здания университета на улице Куйбышева для проезда на транспорте. Ознакомиться с документацией по теме [<https://support.google.com>].

1. Выберите на диске инструмент Google my maps (рис. 5.16).

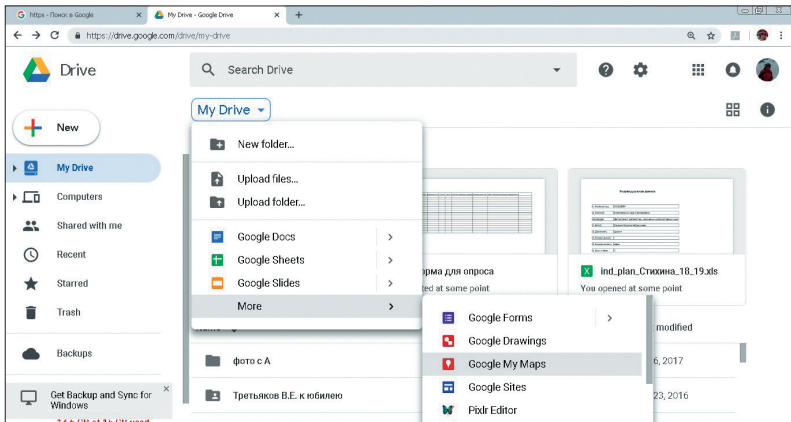


Рис. 5.16. Выбор инструмента

2. Выберите масштаб и получите карту Екатеринбурга. В левой части внесите заголовок карты. Выберите тип карты (базовая, политическая, спутник и пр.) (рис. 5.17).

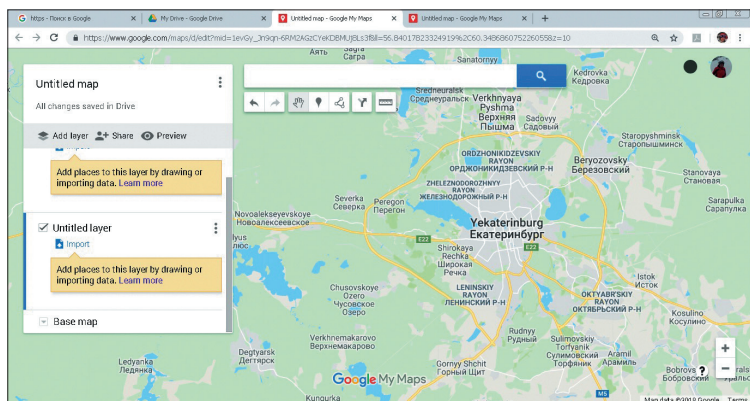


Рис. 5.17. Настройка типа карты

3. Найдите на карте города все здания УрФУ и дополните их вашими ссылками, добавьте фотографию здания к ссылке (рис. 5.18).

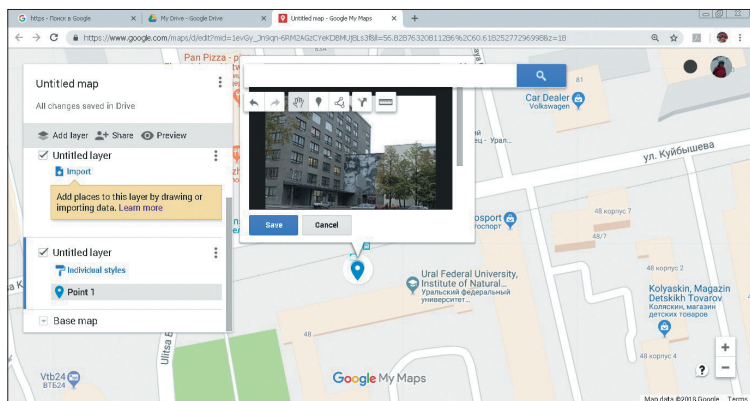


Рис. 5.18. Оформление ссылки на объект с добавлением фотографии

4. Прodelайте аналогичную работу с парками и садами, дайте описание их особенностей (рис. 5.19).

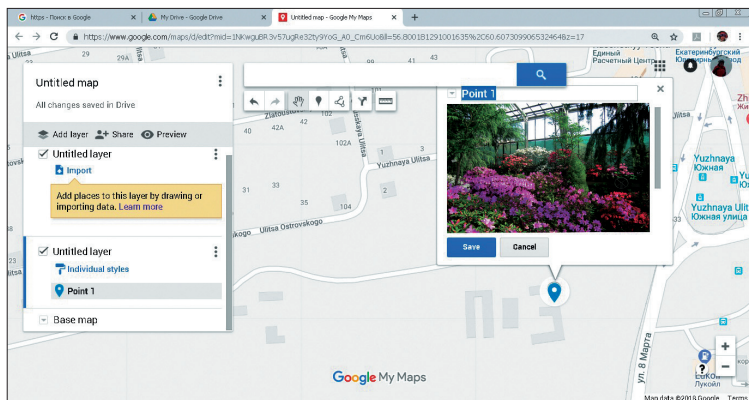


Рис. 5.19. Пример ссылки природного объекта

5. Выберите любые семь объектов, описанных вами, постройте маршрут от одного из зданий УрФУ к этим выбранным объектам (рис. 5.20).

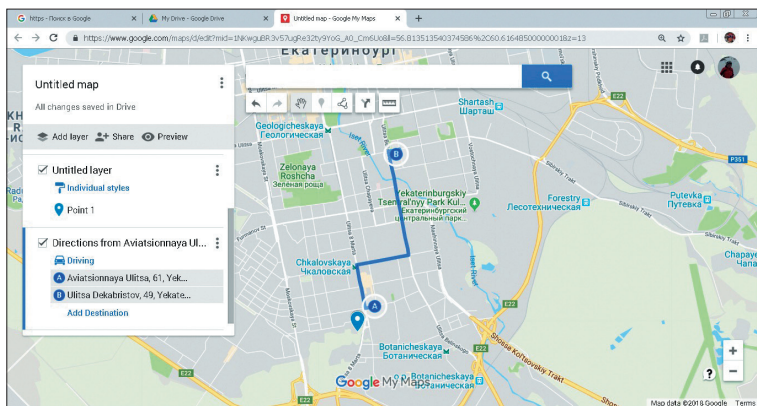


Рис. 5.20. Построение маршрута

6. С помощью инструмента панели «Линейка» оцените расстояние от исходной точки до ближайшей остановки транспорта. Сохраните результат.

7. Сделайте ссылку и отправьте преподавателю.



***Представление результатов.*** Сохранить созданную карту, маршрут и описание объектов на диске и предоставить ссылку преподавателю.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ

1. Что такое облачные хранилища и какие модели работы с ними можно выделить? Что означают аббревиатуры SaaS, PaaS, IaaS?
2. Есть ли экономические преимущества у облачных технологий по сравнению с традиционными?
3. Почему использование облачных технологий предоставляет неограниченные возможности?
4. Какие новые виды диаграмм используются для визуализации (приведите примеры), для каких целей вы могли бы их использовать?
4. Какие возможности предоставляет приложение Google Maps для организации летней практики?

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

Анализ водой вытяжки : метод. рекомендации / сост. О. А. Некрасова, Г. И. Махонина. Екатеринбург : УрГУ, 2003. 36 с.

АО «ЛОМО» [Электронный ресурс]. URL: <http://www.lomo.ru/> (дата обращения: 23.03.2019).

*Большаков В. Н., Бердюгин К. И., Васильева И. А., Кузнецова И. А.* Млекопитающие Свердловской области : справ.-определитель. Екатеринбург : Изд-во «Екатеринбург», 2000. 240 с.

*Вадюнина А. Ф., Корчагина З. А.* Методы исследования физических свойств почв. М. : Агропромиздат, 1986. 416 с.

*Васильев А. Г., Большаков В. Н., Васильева И. А. [и др.].* Фауна насекомых млекопитающих и грызунов Губерлинского мелкосопочника (Оренбургская область) // Фауна Урала и Сибири. 2017. № 1. С. 223–244.

*Горчаковский П. Л.* Антропогенная трансформация и восстановление продуктивности луговых фитоценозов. Екатеринбург : Изд-во «Екатеринбург», 1999. 155 с.

ГОСТ 10782-85 Бутылки стеклянные для крови, трансфузионных и инфузионных препаратов. Технические условия. М. : Стандартинформ, 2006. 17 с. Дата введения 1987.01.01.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия. М. : Стандартинформ, 2007. 9 с. Дата введения 1974.01.01.

ГОСТ 31956-2012 Вода. Методы определения содержания хрома (VI) и общего хрома. М. : Стандартинформ, 2014. 43 с. Дата введения 2014.01.01.

ГОСТ 17.4.4.02-84 Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. М. : Стандартинформ, 2008. 7 с. Дата введения 1986.01.01.

ГОСТ 26483-85 Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение ее pH по методу ЦИНАО. М. : Изд-во стандартов, 1985. 4 с. Дата введения 1986.01.07.

ГОСТ 29269-91 Почвы. Общие требования к проведению анализов. М. : Стандартинформ, 2005. 4 с. Дата введения 1993.07.01.

ГОСТ 26213-91 Почвы. Методы определения органического вещества. М. : Стандартинформ, 2005. 6 с. Дата введения 1993.07.01.

ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М. : Изд-во стандартов, 1984. С. 36–64. Взамен ГОСТ 12038-66. Дата введения 1986.07.01.

*Животовский Л. А.* Онтогенетические состояния, эффективная плотность и классификация популяций растений // *Экология*. 2001. № 1. С. 3–7.

*Жукова Л. А.* Популяционная жизнь луговых растений. Йошкар-Ола : РИИК «Ланар», 1995. 224 с.

*Жуковский В. М.* Методы радиационного контроля окружающей среды: курс лекций : учеб. пособие. Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2008. 280 с.

*Зайцев Г. Н.* Математика в экспериментальной ботанике. М. : Наука, 1990. 296 с.

*Захаров В. М., Баранов А. С., Борисов В. И. [и др.]* Здоровье среды : методика оценки. М. : Центр экологической политики России, 2000. 68 с.

*Зубкова Е. В., Ханина Л. Г., Грохлина Т. И., Дорогова Ю. А.* Компьютерная обработка геоботанических описаний по экологическим шкалам с помощью программы EcoScaleWin : учеб. пособие. Йошкар-Ола : Мар. гос. ун-т ; Пущин. гос. ун-т, 2008. 96 с.

*Лебедева Н. В., Дроздов Н. Н., Кривоуцкий Д. А.* Биоразнообразие и методы его оценки : учеб. пособие. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1999. 95 с.

*Левич А. П.* Структура экологических сообществ. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1980. 180 с.

*Лобанов Н. В.* Микотрофность древесных растений. М. : «Лесная промышленность», 1971. 216 с.

*Лодочников В. Н.* Главнейшие пороодообразующие минералы / под ред. В. С. Соболева. 5-е изд., испр. и доп. М. : Недра, 1974. 248 с.

*Маракушев А. А., Бобров А. В., Перцев Н. Н., Феногенов А. Н.* Петрология. I. Основы кристаллооптики и пороодообразующие минералы. М. : Научный мир, 2000. 316 с.

*Микология сегодня* / под ред. Ю. Т. Дьякова, Ю. В. Сергеева. Т. 1. М. : Национальная академия экологии, 2007. 376 с.

*Мэгарран Э.* Экологическое разнообразие и его измерение. М. : Мир, 1992. 184 с.

*Оленев Г. В., Григоркина Е. Б.* Эволюционно-экологический анализ стратегий адаптации популяций грызунов в экстремальных условиях // *Экология*. 2016. № 5. С. 375–381.

*Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений. М. : Агропромиздат, 1988. 271 с.

*Песенко Ю. А.* Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М. : Наука, 1982. 287 с.

Петрография и петрология магматических, метаморфических и метасоматических горных пород : учеб. / М. А. Афанасьева, Н. Ю. Бардина, О. А. Богатилов [и др.] ; под ред. В. С. Попова, О. А. Богатикова. М. : Логос, 2001. 768 с.

*Полынов Б. Б.* Учение о ландшафтах // *Вопр. географии.* 1953. Сб. 33. С. 30–40.

Радиационная обстановка на территории России и сопредельных государств : ежегодник / под ред. К. П. Махонько. СПб. : Гидрометеиздат, 2016 ([http://www.typhoon.obninsk.ru/upload/medialibrary/e38/ezhegodnik\\_2015.pdf](http://www.typhoon.obninsk.ru/upload/medialibrary/e38/ezhegodnik_2015.pdf)).

*Раменский Л. Г., Цаценкин И. А., Чижиков О. Н., Антипин Н. А.* Экологическая оценка кормовых угодий по растительному покрову. М. : Сельхозгиз, 1956. 472 с.

*Селиванов И. А.* Вопросы терминологии и классификации микориз и микоризоподобных образований // *Учен. зап. Перм. гос. ин-та.* 1973. Т. 112. С. 3–44.

*Селиванов И. А.* Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. М. : Наука, 1981. С. 16–27.

*Селиванов И. А., Шавкунова В. Ф.* Микотрофность растений во флоре и растительном покрове горы Иремель // *Учен. зап. Перм. гос. пед. ин-та.* 1973. С. 72–93.

*Смит С. Э., Рид Д. Дж.* Микоризный симбиоз / пер. с 3-го англ. изд. Е. Ю. Ворониной. М. : Товарищество науч. изд. КМК, 2012. 776 с.

*Старков, В. Д., Мигунов В. И.* Радиационная экология. Тюмень : ФГУ ИПП «Тюмень», 2003. 304 с.

*Степанов А. М.* Методология биоиндикации и фонового мониторинга экосистем суши // *Экотоксикология и охрана природы.* М. : Наука, 1988. С. 28–108.

*Трегер В. Е.* Оптическое определение породообразующих минералов: [справ.-определитель] / пер. с нем. Р. Н. Соболева ; под ред. Н. Д. Соболева. М. : Недра, 1980. 208 с.

*Уранов А. А.* Возрастной спектр фитоценопопуляций как функция времени и энергетических волновых процессов // *Биол. науки.* 1975. № 2. С. 7–34.

*Цыганов Д. Н.* Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов. М. : Наука, 1983. 197 с.

*Шварц С. С., Смирнов В. С., Добринский Л. Н.* Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных // *Тр. Ин-та экологии растений и животных УФАИ СССР.* 1968. Вып. 58. 387 с.

*Штефан Л. В.* Основы кристаллооптики. Минск : БГУ. 2002. 100 с.

Экологический мониторинг : учеб.-метод. пособие / под ред. Т. Я. Ашихминой. М. : Академ. проект, 2005. 416 с.

Яскин В. А. Экспресс-метод оценки макроморфологических особенностей головного мозга мелких млекопитающих // Зоол. журн. 2016. Т. 95, № 3. С. 366–369.

Agerer R. Colour atlas of ectomycorrhizae. Schwäbisch Gmünd : Einhorn-Verlag, 1989. Vol. 1.

Agerer R., Rambold G. DEEMY – An Information System for Characterization and Determination of Ectomycorrhizae [Electronic resource] // München, Germany: Ludwig-Maximilians-Universität. URL: <http://www.deemy.de/> (дата обращения: 23.03.2019).

Brundrett M. C. Diversity and classification of mycorrhizal associations // Biol. Rev. 79. 2004. № 21. P. 473–495.

Cook E. R. A conceptual linear aggregate model for tree-rings // Methods of Dendrochronology : Applications in the Environmental Sciences. Dordrecht, 1990. P. 98–104.

Ellenberg H., Weber H. E., Dull R., Wirth V., Werner W., Paulsen D. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa [Indicator values of plants in Central Europe] // Scripta Geobotanics. Vol. 18. Verlag Erich Goltze KG, Göttingen, 1991. 248 S.

Holmes R. L. Dendrochronology Program Library Users Manual / H. C. Fritts. Tucson ; Arizona, 1994 [Electronic resource]. URL: <http://www.ltr.arizona.edu/pub/dpl/> (accessed: 22.02.2019).

Landolt E. Ökologische Zeigerwerte zur Schweizer Flora // Veröff. Geobot. Inst. ETH. Zürich. 1977. H. 64. 208 s.

Morphological and molecular characterization of selected Ramaria mycorrhizae / E. R. Nouhra et al. // Mycorrhiza. 2005. Vol. 15, № 1. P. 55–59.

Rinn F. TSAP V 3.5 : Computer program for tree-ring analysis and presentation. Frank Rinn Distribution, Germany, 1998.

## СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

*Адлер Ю. П.* Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий / Ю. П. Адлер, Е. В. Маркова, Ю. В. Грановский. — М. : Наука, 1979. — 279 с.

АО «ЛОМО» [Электронный ресурс]. — URL: <http://www.lomo.ru/> (дата обращения: 23.03.2019).

*Аринушкина Е. В.* Руководство по химическому анализу почв / Е. В. Аринушкина. — М. : Изд-во МГУ, 1970. — 488 с.

*Барыкина Р. П.* Основы микротехнических исследований в ботанике : справ. рук. / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятов [и др.]. — М. : Изд-во каф. высш. растений биол. фак. Моск. гос. ун-та, 2000. — 127 с.

*Барыкина Р. П.* Справочник по ботанической микротехнике : Основы и методы / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятов [и др.]. — М. : Изд-во МГУ, 2004. — 312 с.

Биологический контроль окружающей среды : биоиндикация и биотестирование : учеб. пособие / под ред. О. П. Мелеховой, Е. И. Егоровой. — М. : Изд. центр «Академия», 2007. — 288 с.

*Бисерова Н. М.* Методы визуализации биологических ультраструктур. Подготовка биологических объектов для изучения с помощью электронных и флуоресцентных конфокальных лазерных микроскопов : практ. рук. для биологов / Н. М. Бисерова. — М. : Товарищество науч. изд. КМК, 2013. — 104 с.

*Буковшин В. В.* Современные методы исследования минерального вещества : учеб. пособие / В. В. Буковшин. — Воронеж : Изд-во ВГУ, 1999. — 38 с.

*Бухвалов В. А.* Методы экологических исследований / В. А. Бухвалов, Л. В. Богданова, Л. З. Купер. — М. : Варяг, 1995. — 167 с.

*Васильева Н. Н.* Минералогия и петрография / Н. Н. Васильева. — Челябинск : ЮУГГПУ, 2017. — 233 с.

*Воробьева Л. А.* Теория и практика химического анализа почв / Л. А. Воробьева. — М. : ГЕОС, 2006. — 400 с.

*Воробьева Л. А.* Химический анализ почв: Вопросы и ответы / Л. А. Воробьева, Д. В. Ладонин, О. В. Лопухина, Т. А. Рудакова, А. В. Кирюшин. — М. : Изд-во Россельхозакадемии, 2012. — 186 с.

Выбираем облачное хранилище : каждому бизнесу — по потребностям [Электронный ресурс]. — URL: <https://www.kp.ru/guide/oblachnoe-hranilishche.html> (дата обращения: 27.03.2019).

*Дмитриенко В. П.* Экологический мониторинг техносферы : учеб. пособие / В. П. Дмитриенко, Е. В. Сотникова, А. В. Черняев. — СПб. : Лань, 2012. — 368 с.

Единый государственный реестр почвенных ресурсов России. Версия 1.0 : коллектив. моногр. — М. : Почвен. ин-т им. В. В. Докучаева Россельхозакадемии, 2014. — 768 с.

*Емлин Э. Ф.* Литология : учеб. пособие / Э. Ф. Емлин. — Свердловск : Изд-во СГИ, 1986. — 88 с.

*Жирнов Ю.* Топ-10 облачных хранилищ 2017 года [Электронный ресурс]. — URL: <http://fornote.net/2017/01/top-10-oblachny-h-hranilishh-2017-goda/> (дата обращения: 25.03.2019).

*Жукова Л. А.* Поливариантность луговых растений / Л. А. Жукова // Жизненные формы в экологии и систематике растений. — М. : Изд-во МГПИ им. В. И. Ленина, 1986. — С. 104–114.

*Жукова Л. А.* Программа и методические подходы к популяционному мониторингу растений / Л. А. Жукова, Л. Б. Заугольнова, В. Г. Мичурин [и др.] // Биол. науки. — 1989. — № 12. — С. 65–75.

*Жуковский В. М.* Методы радиационного контроля окружающей среды : курс лекций : учеб. пособие. — Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2008. — 280 с.

*Злобин Ю. А.* Принципы и методы изучения ценологических популяций растений : учеб.-метод. пособие / Ю. А. Злобин. — Казань : Изд-во Казан. ун-та, 1989. — 146 с.

*Злобин Ю. А.* Теория и практика оценки виталитетного состава ценопопуляций растений / Ю. А. Злобин // Ботан. журн. — 1989. — Т. 74, № 6. — С. 769–781.

*Калинин В. А.* Модель оценки состояния пораженных древостоев / В. А. Калинин, В. И. Крюк, Н. А. Луганский, С. А. Шавнин // Экология. — 1991. — № 3. — С. 21–28.

*Клейн Р. М.* Методы исследования растений / Р. М. Клейн, Д. Т. Клейн. — М. : Колос, 1974. — 389 с.

*Короновский Н. В.* Геология : учеб. — 7-е изд., перераб. / Н. В. Короновский, Н. А. Ясаманов. — М. : Академия, 2011. — 448 с.

*Крстич Р. В.* Иллюстрированная энциклопедия по гистологии человека / Р. В. Крстич. — СПб. : СОТИС, 2001. — 536 с.

*Мамонтов В. Г.* Практикум по химии почв : учеб. пособие / В. Г. Мамонтов, А. А. Гладков. — М. : ФОРУМ ИНФРА-М, 2015. — 272 с.

*Миловский А. Н.* Минералогия и петрография / А. Н. Миловский. — М. : Недра, 1994. — 350 с.

*Мухитов А. Р.* Современная световая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях / А. Р. Мухитов, С. С. Архипова, Е. Е. Никольский. — М. : Наука, 2011. — 144 с.

Облачные вычисления [Электронный ресурс]. — URL: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Облачные\\_вычисления](https://ru.wikipedia.org/wiki/Облачные_вычисления) (дата обращения: 25.03.2019).

*Онипченко В. Г.* Функциональная фитоценология : Синэкология растений : учеб. пособие. — 2-е изд., стер. / В. Г. Онипченко. — М. : КРАСАНД, 2014. — 576 с.

От хранения данных к управлению информацией / [пер. с англ. Н. Вильчинского]. — 2-е изд. — СПб. ; М. ; Екатеринбург [и др.] : Питер, 2016. — 544 с. : ил. — Глоссарий. — С. 495–543. — Пер. изд. : Information Storage and Management. 2012.

*Патова Е. Н.* Экологический мониторинг : учеб. пособие / Е. Н. Патова, Е. Г. Кузнецова. — Сыктывкар : Сыктывкар. лесн. ин-т, 2013. — 52 с.

*Пермяков А. И.* Микротехника : учеб.-метод. пособие / А. И. Пермяков. — М. : Изд-во МГУ, 1988. — 58 с.

Петрография и петрология магматических, метаморфических и метасоматических горных пород : учеб. / М. А. Афанасьева, Н. Ю. Бардина, О. А. Богатиков [и др.] ; под ред. В. С. Попова и О. А. Богатикова. — М. : Логос, 2001 — 768 с.

*Позолотина В. Н.* Современное состояние наземных экосистем Восточно-Уральского радиоактивного следа: уровни загрязнения, биологические эффекты / В. Н. Позолотина, И. В. Молчанова, Е. Н. Караваева [и др.]. — Екатеринбург : Изд-во «Голицинский», 2008. — 204 с.

Практическое руководство по общей геологии / А. И. Гуцин, М. А. Романовская, А. Н. Стафеев [и др.] ; под ред. Н. В. Короновского. — 2-е изд., стер. — М. : Издат. центр «Академия», 2007. — 160 с.

Программы для хранения данных (фото, видео, документы) в облаке [Электронный ресурс]. — URL: <https://www.softhome.ru/article/programmy-dlya-hraneniya-dannyh#collection-1000832> (дата обращения: 25.03.2019).

Руководство к практическим занятиям по микробиологии. — М. : МГУ, 1995. — 221 с.

*Селиванов И. А.* Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза / И. А. Селиванов. — М. : Наука, 1981. — 230 с.

*Семченко В. В.* Гистологическая техника / В. В. Семченко, С. А. Барашкова [и др.]. — Омск : Изд-во Омск. гос. мед. акад., 2006. — 279 с.



*Сиротин К. М.* Определитель минералов. Минералы магматических и метаморфических пород под микроскопом / К. М. Сиротин. — М. : Высш. шк., 1970. — 264 с.

Справочный центр — Google Диск [Электронный ресурс]. — URL: <https://support.google.com/drive/?hl=ru#topic=14940> (дата обращения: 25.03.2019).

*Старков В. Д.* Радиационная экология / В. Д. Старков, В. И. Мигунов. — Тюмень : ФГУ ИПП «Тюмень», 2003. — 304 с.

*Столбова Н. Ф.* Таблицы оптических свойств главных породообразующих минералов (магматических, метаморфических, осадочных) / Н. Ф. Столбова. — Томск : Изд-во ТПУ, 1992–1995.

*Сурикова Т. Б.* Экологический мониторинг : учеб. / Т. Б. Сурикова. — Ст. Оскол : ТНТ, 2013. — 344 с.

*Татаренко И. В.* Микориза орхидных (Orchidaceae) Приморского края / И. В. Татаренко // Ботан. журн. — СПб. : Наука, 1995. — Т. 80. — С. 64–72.

*Тихонова И. О.* Экологический мониторинг атмосферы : учеб. пособие / И. О. Тихонова, В. В. Тарасов, Н. Е. Кручинина. — М. : Форум, НИЦ ИНФРА-М, 2013. — 136 с.

*Тихонова И. О.* Экологический мониторинг водных объектов : учеб. пособие / И. О. Тихонова, Н. Е. Кручинина, А. В. Десятов. — М. : Форум, НИЦ ИНФРА-М, 2012. — 152 с.

*Тишин Д. В.* Дендрозкология (методика древесно-кольцевого анализа) / Д. В. Тишин. — Казань : Казан. ун-т, 2011. — 33 с.

*Трифорова Т. А.* Прикладная экология / Т. А. Трифорова, Н. В. Селиванова, Н. В. Мищенко. — М. : Академ. проект, 2005. — 381 с.

*Федорова А. И.* Практикум по экологии и охране окружающей среды / А. И. Федорова, А. Н. Никольская. — М. : Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 2003. — 288 с.

*Фомин В. В.* Влияние горного рельефа местности и аэропромышленных загрязнений на биометрические характеристики сосновых древостоев / В. В. Фомин, С. А. Шавнин // Экология. — 2002. — № 3. — С. 170–174.

*Фомин В. В.* Географические информационные системы : учеб. пособие / В. В. Фомин, З. Я. Нагимов, С. А. Шавнин, Д. Ю. Голиков. — Екатеринбург : УГЛТУ, 2003. — 106 с.

*Фомин В. В.* Климатогенная и антропогенная пространственно-временная динамика древесной растительности во второй половине XX века / В. В. Фомин. — Екатеринбург : ИЭРиЖ УрО РАН, 2009. — 150 с.

*Фомин В. В.* Морфофизиологическая и автоматизированная оценка состояния сосновых древостоев в зоне действия атмосферных промышленных

загрязнений / В. В. Фомин, А. С. Попов, Н. Ф. Низаметдинов, Ю. В. Шаламова, С. А. Шавнин // Лесн. вестн. — 2007. — № 8. — С. 75–79.

*Фомин В. В.* Экологическое зонирование состояния лесов в районах действия атмосферных промышленных загрязнений / В. В. Фомин, С. А. Шавнин // Экология. — 2001. — № 2. — С. 104–108.

Ценопопуляции растений (основные понятия и структура). — М. : Наука, 1976. — 216 с.

Ценопопуляции растений (развитие и взаимоотношения). — М. : Наука, 1977. — 183 с.

Ценопопуляции растений (очерки популяционной биологии). — М. : Наука, 1988. — 236 с.

*Шиятов С. Г.* Методы дендрохронологии. Ч. 1 : Основы дендрохронологии. Сбор и получение древесно-кольцевой информации : учеб.-метод. пособие / С. Г. Шиятов [и др.]. — Красноярск : КрасГУ, 2000. — 80 с.

*Япаскурт О. В.* Литология : учеб. / О. В. Япаскурт. — М. : Издат. центр «Академия», 2008. — 336 с.

*Яхонтова Л. К.* Основы минералогии гипергенеза : учеб. пособие / Л. К. Яхонтова, В. П. Зверева. — Владивосток : Дальнаука, 2000. — 331 с.

*Ясовеев М. Г.* Экологический мониторинг и экологическая экспертиза : учеб. пособие / М. Г. Ясовеев, Н. Л. Стреха, Э. В. Какарека, Н. С. Шевцова ; под ред. проф. М. Г. Ясовеева. — М. : ИНФРА-М ; Новое знание, 2013. — 304 с.

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ .....	3
1. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИНЕРАЛЬНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ КОР ВЫВЕТРИВАНИЯ И ПОЧВ .....	6
Работа 1. Петрографическое описание горных пород.....	6
Работа 2. Кристаллооптический метод диагностики минералов и горных пород .....	14
Работа 3. Изучение гипергенных изменений минералов .....	26
Контрольные вопросы и задания .....	32
2. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ПОЧВ .....	33
2.1. Химические свойства почв.....	33
Работа 1. Общие правила работы в химической лаборатории и подготовка почвы к химическому анализу .....	33
Работа 2. Определение гигроскопической влаги в почве .....	36
Работа 3. Определение pH водной и солевой вытяжки .....	37
Работа 4. Определение легкорастворимых фосфатов.....	38
Работа 5. Определение гумуса почв .....	43
Работа 6. Определение азота в почве .....	47
Работа 7. Определение гидролитической кислотности .....	51
Работа 8. Определение подвижного алюминия.....	53
Работа 9. Определение емкости поглощения почв .....	56
Работа 10. Определение подвижных форм железа .....	60
Работа 11. Анализ водной вытяжки.....	63
2.2. Физические свойства почв .....	65
Работа 1. Определение плотности твердой фазы почвы .....	65
Работа 2. Определение гранулометрического состава почв.....	67
Работа 3. Определение капиллярной влагоемкости почвы .....	71
Работа 4. Определение полной влагоемкости почвы.....	72
Контрольные вопросы и задания .....	73
3. РАСТЕНИЯ КАК ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ В МОНИТОРИНГЕ .....	76
3.1. Оценка основных сред обитания живых организмов .....	76

Работа 1. Закладка модельного эксперимента для изучения влияния тяжелых металлов на растения .....	76
Работа 2. Влияние тяжелых металлов на пигментный комплекс растений .....	80
Работа 3. Определение количества поврежденных клеток в листе элодеи, выращенной в загрязненной тяжелыми металлами среде .....	88
Работа 4. Биотестирование проб воды с использованием водорослей .....	91
Работа 5. Биотестирование образцов природных сред с использованием редиса .....	98
Работа 6. Оценка уровня загрязнения природной воды по содержанию в ней растворенного кислорода .....	101
Работа 7. Выявление загрязнения воздуха соединениями серы по содержанию сульфатов в коре растений .....	105
Работа 8. Оценка состояния атмосферного воздуха .....	111
Работа 9. Оценка загрязнения почв тяжелыми металлами .....	114
Работа 10. Оценка загрязнения атмосферного воздуха по снежной пробе .....	117
Работа 11. Определение хрома в поверхностных водах .....	119
Контрольные вопросы и задания .....	124
3.2. Комплексная оценка состояния древостоев в зонах действия атмосферных промышленных загрязнений .....	126
Работа 1. Морфофизиологическая оценка состояния сосновых древостоев .....	126
3.3. Оценка экологического состояния атмосферного воздуха методом биоиндикации .....	145
Работа 1. Оценка состояния атмосферного воздуха методом биоиндикации с использованием хвои сосны обыкновенной .....	146
Работа 2. Экспресс-оценка качества среды по флуктуирующей асимметрии листовой пластинки древесных и травянистых растений .....	148
3.4. Методы радиоэкологического контроля .....	152
Работа 1. Методы регистрации радиоактивности и ионизирующих излучений .....	154
Работа 2. Биологическое действие больших доз радиации .....	158
Контрольные вопросы и задания .....	162

3.5. Оценка условий местообитания растительных сообществ .....	163
Работа 1. Использование флористического состава для оценки экологических свойств экотопов и состояния растительных сообществ.....	163
3.6. Дендрохронологический мониторинг.....	169
Работа 1. Сбор образцов древесины.....	170
Работа 2. Подготовка образцов древесины к измерениям.....	172
Работа 3. Измерение и датировка характеристик годовых слоев древесины .....	176
Работа 4. Статистический анализ древесно-кольцевой хронологии.....	182
Контрольные вопросы и задания.....	187
3.7. Ценопопуляции растений в экологическом мониторинге.....	188
Работа 1. Определение возрастной структуры ценопопуляций.....	189
Работа 2. Морфологический анализ растений .....	193
Работа 3. Определение плотности и массы ценопопуляций растений .....	195
Работа 4. Определение типа возрастной структуры ценопопуляций .....	198
Работа 5. Пространственная структура ценопопуляций .....	201
Работа 6. Определение посевных качеств семян .....	204
Контрольные вопросы и задания.....	208
3.8. Ботаническая микротехника .....	209
Работа 1. Микроскоп и основные вспомогательные приборы.....	209
Работа 2. Приборы для изготовления анатомических срезов. Методика изготовления анатомических срезов на замораживающем микротоме.....	221
Работа 3. Методика получения постоянных препаратов .....	231
Работа 4. Методика получения временных препаратов .....	257
Работа 5. Цитогенетический метод .....	262
Контрольные вопросы и задания.....	265
3.9. Методы изучения микоризы у особей растений и ее распространения в наземных сообществах .....	265
Работа 1. Изучение арбускулярной микоризы.....	269
Работа 2. Изучение эктомикоризы .....	272
Контрольные вопросы и задания.....	283

4. МЛЕКОПИТАЮЩИЕ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ....	284
Работа 1. Основные параметры биоразнообразия мелких млекопитающих.....	284
Работа 2. Параметры биоразнообразия сообществ мелких млекопитающих.....	289
Контрольные вопросы и задания .....	292
5. ОБЛАЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КАК ИНСТРУМЕНТ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ .....	293
Работа 1. Создание и использование Google Disk.....	294
Работа 2. Использование сервиса Google «Календарь» .....	298
Работа 3. Использование стандартных инструментов Google для работы с документами. Подготовка анкеты и сбор данных. Обработка результатов и визуализация.....	301
Работа 4. Работа с картами, создание маршрута .....	304
Контрольные вопросы и задания .....	307
Библиографические ссылки .....	308
Список рекомендуемой литературы.....	312

*Учебное издание*

# МЕТОДЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Большой специальный практикум

Под общей редакцией  
Татьяны Александровны Радченко

Заведующий редакцией  
Редактор  
Корректор  
Оригинал-макет

*М. А. Овечкина  
Т. А. Федорова  
Т. А. Федорова  
Л. А. Хухаревой*

Подписано в печать 04.10.2019. Формат 60 × 84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Цифровая печать. Усл. печ. л. 18,83.  
Уч.-изд. л. 16,5. Тираж 40 экз. Заказ 223.

Издательство Уральского университета.  
Редакционно-издательский отдел ИПЦ УрФУ  
620083, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4.  
Тел.: +7 (343) 389-94-79, 350-43-28  
E-mail: [rio.marina.ovechkina@mail.ru](mailto:rio.marina.ovechkina@mail.ru)

Отпечатано в Издательско-полиграфическом центре УрФУ  
620083, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4.  
Тел.: +7 (343) 358-93-06, 350-58-20, 350-90-13  
Факс +7 (343) 358-93-06  
<http://print.urfu.ru>



Для заметок

Для заметок



